

Univerzita Karlova

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory

Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Jana Vepřková

Molekulární mechanismy karcinogenního působení alkoholu

Molecular mechanisms of carcinogenic effects of alcohol

Bakalářská práce

Školitel: Mgr. Adéla Kábelová

Praha, 2020

Poděkování

Předně bych chtěla poděkovat školitelce mé bakalářské práce Mgr. Adéle Kábelové za trpělivost, ochotu, věnovaný čas, cenné rady a komentáře, které mi pomohly při sepisování práce.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, dne, 5.6.2020

Podpis

Abstrakt

Alkohol (ethanol), se do organismu dostává zejména požíváním alkoholických nápojů a jeho chronická konzumace je celosvětový socio-ekonomický problém. Konzumace alkoholu zvyšuje mimo jiné riziko vzniku karcinomu prsu, jater, tlustého střeva, horního dýchacího a trávicího traktu. V játrech se ethanol metabolizuje na toxický acetaldehyd, který je zodpovědný za většinu poškození DNA vedoucích k rozvoji nádorového onemocnění. Acetaldehyd kovalentně interaguje s nukleotidy v DNA za vzniku DNA aduktů jako jsou například N²-ethyliden-2'-deoxyguanosin nebo S- a R- α -methyl- γ -hydroxy-1,N²-propano-2'-deoxyguanosin. Acetaldehyd může interagovat i s proteiny a narušovat tak jejich funkci. Metabolizací ethanolu cytochromem P450 2E1 dochází k produkci reaktivních kyslíkových radikálů, které následně poškozují buněčné molekuly, především lipidy a DNA. Ethanol může iniciovat proces karcinogeneze i deregulací procesu methylace DNA nebo interakcí s metabolismem kyseliny retinové. Při vzniku nádorového onemocnění spolupůsobí alkohol s dalšími environmentálními a genetickými faktory, které mohou u predisponovaných jedinců riziko rozvoje nádorového onemocnění zvyšovat.

Klíčová slova: alkohol, acetaldehyd, nádorová onemocnění, DNA adukty, oxidační stres, DNA methylace, kyselina retinová

Abstract

Alcohol (ethanol) enters the human body mainly through ingestion of alcoholic beverages and its chronic consumption is considered a worldwide socio-economic problem. Besides others, alcohol consumption increases the risk of development of breast, liver, colorectal and upper aerodigestive tract cancer. In the liver, ethanol is metabolised into toxic acetaldehyde which is the main cause of DNA damage leading to cancer development. Acetaldehyde covalently interacts with nucleotides in the DNA forming DNA adducts such as N²-ethylidene-2'-deoxyguanosine or S- and R- α -methyl- γ -hydroxy-1,N²-propano-2'-deoxyguanosine. Acetaldehyde can also interact with proteins and disrupt their function. Ethanol metabolism by cytochrome P450 2E1 leads to production of reactive oxygen species, that subsequently damage cellular molecules such as lipides and DNA. Ethanol also initiates carcinogenesis through aberrant DNA methylation or interference with retinoic acid metabolism. In cancer development, alcohol interacts with other environmental and genetic factors, which can increase the risk of developing cancer in predisposed individuals.

Key words: alcohol, acetaldehyde, cancer, DNA adducts, oxidative stress, DNA methylation, retinoic acid

Seznam zkratek

Acetyl-CoA	Acetyl-koenzym A
A, C, T, G	Adenosin, cytosin, guanosin, thymidin
ADH	Alkohol dehydrogenáza
ALDH	Aldehyd dehydrogenáza
AP-1	Aktivační protein 1
BHMT	Betain homocystein methyltransferáza
BRCA	Breast cancer susceptibility gene
CDKN1A	Cyclin-dependent kinase inhibitor 1A
CpG	Cytosin-fosfát-guanin
CRBPI	Buněčný protein vázajícího retinol 1
CrPdG	S- a R- α -methyl- γ -hydroxy-1, N^2 -propano-2'-deoxyguanosin
CYP2E1	Cytochrom P450 2E1
dA	deoxyadenosin
dC	deoxycytidin
dG	deoxyguanosin
DNMT	DNA methyltransferáza
DSB	Dvouřetězcové zlomy DNA
dsDNA	Dvouřetězcová DNA
ERK	Extracelulárně regulované kinázy
ϵdA	1, N^6 -etheno-2'-deoxyadenosin
ϵdC	3, N^4 -etheno-2'-deoxycytidin
GTP	Guanosintrifosfát
HNE	4-hydroxy-2-nonenal
ITGA6	Podjednotka integrinu $\alpha 6$
MAPK	Protein kinázy aktivované mitogenem
MAT	Methionin adenosyltransferáza
MDA	Malondialdehyd

MGMT	O ⁶ -methylguanin methyltransferáza
MTR	Methionin syntáza
NADH	Redukovaný nikotinamidadenindinukleotid
NAD⁺	Oxidovaný nikotinamidadenindinukleotid
NER	Nukleotidová excizní oprava
NεG	1,N ² -etheno-2'-deoxyguanosin
N²-ethyliden-dG	N ² -ethyliden-2'-deoxyguanosin
N²-Et-dG	N ² -ethyl-2'-deoxyguanosin
PCFT	Folátový transportér spojený s elektrony
PPIF	Peptidyl-prolyl cis-trans izomeráza
RA	Kyselina retinová
RALA	Protoonkogen A podobný Ras
RAR	Receptor kyseliny retinové
RFC	Redukovaný folátový přenašeč
ROS	Reaktivní kyslíkové radikály
SH3D21	Src homolog 3 obsahující doménu 21
Src	Sarcoma kinase
SRP	Částice rozpoznávající signál
ssDNA	Jednořetězcová DNA
TP53	Tumor protein p53
SAH	S-adenosylhomocystein
SAM	S-adenosylmethionin

Obsah

1. Úvod.....	1
2. Ethanol.....	3
2.1. Metabolismus ethanolu.....	3
2.1.1. Alkohol dehydrogenáza a aldehyd dehydrogenáza	3
2.1.2. Cytochromy z rodiny P450.....	4
2.1.3. Kataláza.....	4
2.2. Faktory ovlivňující metabolismus alkoholu	5
2.2.1. Genové varianty enzymů zapojených do metabolismu ethanolu	6
2.2.1.1. Polymorfismy <i>ADH1B</i> a <i>ADH1C</i>	6
2.2.1.2. Polymorfismus <i>ALDH2</i>	6
2.2.2. Vliv mikrobiomu na metabolismus alkoholu	8
3. Acetaldehyd.....	8
3.1. Poškození DNA v důsledku působení acetaldehydu	9
3.1.1. DNA adukty	9
3.1.1.1. N ² -ethyliden-2'-deoxyguanosin.....	9
3.1.1.2. S- a R- α -methyl- γ -hydroxy-1,N ² -propano-2'-deoxyguanosin	10
3.1.1.3. DNA adukt tvořící dimery GG	11
3.1.2. Proteinové adukty.....	12
4. Další mechanismy ovlivňující karcinogenezi.....	12
4.1. Oxidační stres	12
4.1.1. Úloha alkoholu v indukci oxidačního stresu	13
4.1.1.1. Produkce ROS cytochromem CYP2E1	13
4.1.1.2. Produkce ROS v mitochondriích.....	14
4.1.2. Peroxidace lipidů	15
4.1.2.1. Adukce produktů peroxidace lipidů na DNA	15
4.2. Methylace DNA	16
4.2.1. Úloha alkoholu v procesu methylace DNA.....	16
4.2.2. Methylace DNA a rozvoj nádorových onemocnění	18
4.2.2.1. Hypomethylace onkogenů	19
4.2.2.2. Hypermethylace antionkogenů.....	19
4.3. Metabolismus kyseliny retinové.....	21
5. Závěr.....	22
6. Seznam použité literatury	24

1. Úvod

Nádorová onemocnění patří, společně s kardiovaskulárními chorobami, mezi nejčastější příčiny úmrtí v rozvinutých zemích světa. V České republice každoročně nově onemocní některým typem nádorového onemocnění kolem 100 tisíc jedinců, přičemž necelých 30 tisíc z nich na tuto diagnózu také umírá (ÚZIS ČR 2016). Lze očekávat, že incidence nádorových onemocnění se bude v dalších letech dále zvyšovat. Důvodem je především zvyšující se střední délka života a s tím související kumulativní působení rizikových faktorů nádorové transformace, tj. přeměny normální buňky na buňku nádorovou.

Přesto, že se výzkum v oblasti terapie nádorových onemocnění během posledních let značně rozvinul, zcela účinná kurativní léčba stále chybí. Nejefektivnější léčebnou metodou dosud zůstává chirurgické odstranění nádorového ložiska, případně radioterapie (ozařování). Velmi často bývají zmíněné metody lokální terapie dále kombinovány se systémovou léčbou, nejčastěji chemoterapií, jejímž cílem je předejít recidivě nádorového onemocnění. Nevýhodou chemoterapie je však negativní vliv i na nenádorové buňky, s čímž souvisí celá řada vedlejších účinků léčby, ale i vysoké riziko vzniku rezistence nádorových buněk k použitému cytostatiku. V posledních letech se nově rozvíjejí další, často zatím experimentální léčebné metody, například protonová či biologická léčba, imunoterapie nebo genová terapie. Ty by v porovnání s běžně užívanými klinickými metodami léčby nádorových onemocnění měly vykazovat vyšší terapeutický efekt, případně i méně vedlejších účinků. Úspěšnost léčby nádorového onemocnění podstatně závisí i na jeho časném zachytu (sekundární prevenci), kterého lze docílit důsledným celoplošným screeningem populace. Z hlediska primární prevence, tj. snížení incidence a následně tak nepřímo i morbiditu a mortality nádorových onemocnění, se jako nejúčinnější jeví omezení rizikových faktorů nádorové transformace, mezi které patří například užívání alkoholických nápojů.

V České republice činí spotřeba čistého alkoholu (ethanolu) přibližně 10 litrů na osobu za rok (ČSÚ 2018). Látkou zodpovědnou za negativní vliv alkoholických nápojů na lidský organismus je právě ethanol, respektive jeho metabolit acetaldehyd. Souvislost mezi konzumací alkoholických nápojů a rozvojem celé řady onemocnění, včetně nádorových, byla v minulosti již jednoznačně prokázána. Užívání alkoholu, a to v jakémkoli množství, významně zvyšuje riziko rozvoje maligního nádoru dutiny ústní, hrtanu, hltanu, jícnu, jater, žaludku, tlustého střeva, konečníku, prsu a slinivky. Kromě nádorů pak konzumace alkoholu přispívá k rozvoji jaterní steatózy, případně až cirhózy, chronického zánětu žaludku, poškození ledvin a pohlavních orgánů. Mimo to je konzumace alkoholu také rizikovým faktorem pro vznik obezity, diabetu 2. typu a aterosklerózy, jejímž následkem může být srdeční infarkt či cévní mozková příhoda.

Hlavním cílem této bakalářské práce je shrnutí současných poznatků týkajících se molekulárních mechanismů karcinogenního působení alkoholu. Diskutovány budou molekulární

mechanismy, kterými ethanol a jeho metabolit acetaldehyd ovlivňují funkci a strukturu DNA a proteinů. Dále bude zmíněn vliv ethanolu na metabolismus kyseliny retinové. Pozornost bude věnována také genům, jejichž produkty se účastní metabolismu alkoholu a jejich variantám, které jedince určitého genotypu mohou predisponovat k rozvoji nádorových onemocnění.

2. Ethanol

Ethanol (ethylalkohol) je z chemického hlediska organický kyslíkatý derivát vody, přesněji hydroxysloučenina, která patří mezi primární alkoholy. Molekula ethanolu je tvořena alifatickým řetězcem, ve kterém je k molekule kyslíku navázán uhlovodíkový zbytek, konkrétně ethan, a vodík (shrnutí v Břížd'ala 2017). V rámci organismu je ethanol jako malá hydrofilní molekula distribuován prostřednictvím tělesné vody. Koncentrace ethanolu je tak ve většině tkání a krvi přibližně stejná. Výjimkou je tuková tkáň, ve které je z důvodu hydrofobicity koncentrace ethanolu nižší a játra, která jsou naopak ethanolu exponována nejvíce, neboť do nich ústí portální žíla sbírající krev přímo ze žaludku a tenkého střeva. Vyšší koncentraci ethanolu lze nalézt také ve tkáních s vysokým krevním průtokem, například v mozku a plicích (shrnutí v Paton 2005).

Vzhledem k možnému vzniku závislosti (alkoholismu) je ethanol řazen mezi návykové látky, nicméně sám ethanol genotoxicky, mutageně, ani karcinogenně nepůsobí. Vznik nádorového onemocnění v důsledku konzumace alkoholických nápojů je tak spíše podmíněn působením látek, které v organismu vznikají při metabolické přeměně ethanolu, především acetaldehydem (shrnutí v Seitz a Stickel 2010).

2.1. Metabolismus ethanolu

Ze zkonzumované dávky ethanolu je jen velmi malá část vyloučena z organismu v nezměněné podobě dechem, potem a močí. Přibližně 90–98 % ethanolu je eliminováno enzymaticky prostřednictvím metabolických drah, které budou popsány v následujících kapitolách (viz Obr. 1), (shrnutí v Zima 2018).

2.1.1. Alkohol dehydrogenáza a aldehyd dehydrogenáza

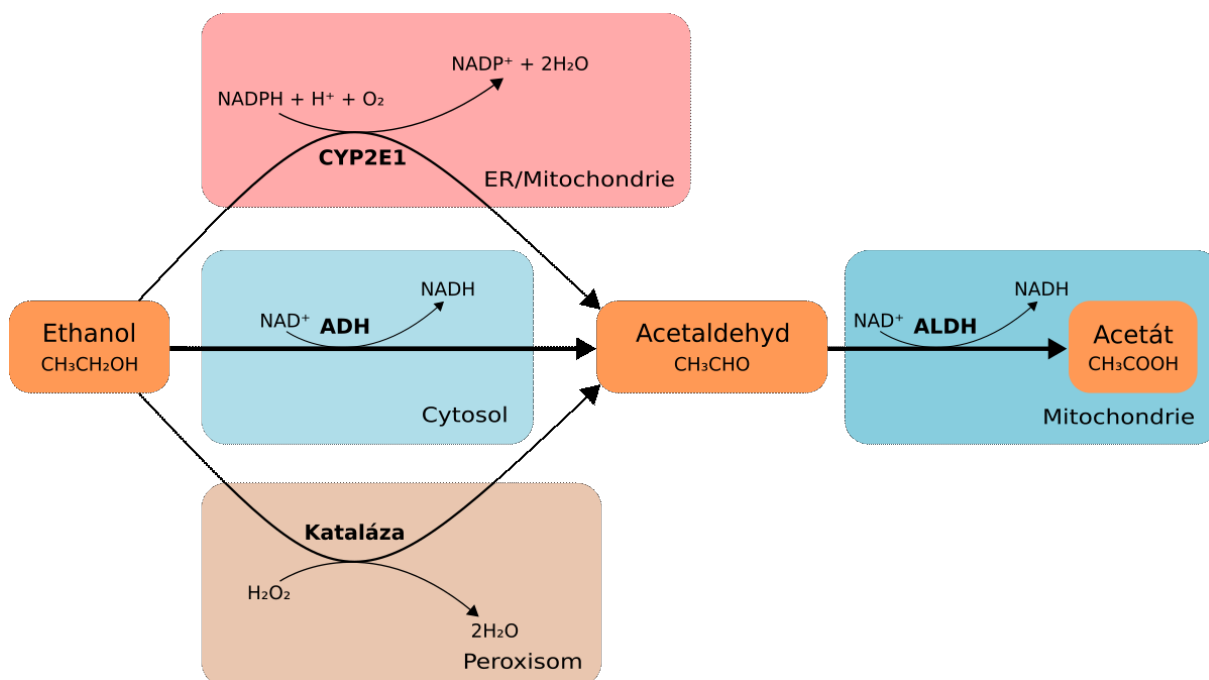
Většina zkonzumovaného ethanolu je metabolizována pomocí enzymů alkohol dehydrogenázy (ADH) a aldehyd dehydrogenázy (ALDH) v játrech, pouze malé množství ethanolu je metabolizováno již v žaludku, kde jsou tyto enzymy také přítomny (shrnutí v Orywal a Szmitkowski 2017). Prvním krokem metabolické přeměny ethanolu je jeho reverzibilní oxidace na acetaldehyd enzymem ADH, který se aktivuje již při nízkých koncentracích ethanolu v krvi. Důležitým kofaktorem této reakce je NAD^+ (oxidovaný nikotinamidadenin dinukleotid), který přijímá vodíkový proton H^+ za vzniku NADH (redukovaný nikotinamidadenin dinukleotid). Vznikající meziprodukt acetaldehyd je pak dále v mitochondriích oxidován na acetát enzymem ALDH, opět za současné redukce NAD^+ na NADH. Většina vznikajícího acetátu je následně transportována z jater do periferních tkání, kde reaguje s koenzymem A za vzniku acetyl koenzymu A (acetyl-CoA). Acetyl-CoA vstupuje do dalších metabolických drah, ve kterých může být, v závislosti na nutričním, hormonálním a energetickém stavu organismu, přeměněn na různé metabolity včetně oxidu uhličitého, mastných kyselin, ketonových látek a cholesterolu (shrnutí v Cederbaum 2012). Zbytek acetátu, který nebyl dále metabolizován, je jako konečný produkt vyloučen močí (shrnutí v Hurley a Edenberg 2012).

2.1.2. Cytochromy z rodiny P450

Ethanol může být metabolizován také prostřednictvím enzymů z rodiny cytochromů P450. Tyto enzymy se podílí na metabolismu léků, steroidních hormonů, mastných kyselin a toxických látek včetně karcinogenů. Do metabolismu ethanolu jsou tyto enzymy zapojeny však až při požití větší dávky alkoholu, případně při konzumaci nápojů s vysokým procentuálním obsahem ethanolu, tedy když je v těle výrazně zvýšena koncentrace ethanolu. Pro metabolismus ethanolu je zvláště důležitý především cytochrom P450 2E1 (CYP2E1), který je součástí jaterního mikrosomálního ethanol-oxidujícího systému, ve kterém je ethanol oxidován na acetaldehyd. Vznikající acetaldehyd je pak následně oxidován enzymem ALDH na acetát (shrnutí v Guengerich a Avadhani 2018). Nevýhodou eliminace ethanolu pomocí cytochromů P450 je vznik reaktivních forem kyslíku, které mohou reagovat s buněčnými molekulami, především lipidy a DNA, a poškozovat je (viz kapitola 4.1.1.1. a kapitola 4.1.2.).

2.1.3. Kataláza

Metabolismus ethanolu může také probíhat v buněčných peroxizomech prostřednictvím enzymu katalázy. Kataláza se za běžných podmínek podílí na neutralizaci vysoce reaktivního peroxidu vodíku (H_2O_2), čímž zajišťuje antioxidační ochranu buňky. Mimo to však může kataláza, pomocí peroxidu vodíku, katalyzovat také oxidaci dalších sloučenin včetně ethanolu, přičemž konečným produktem této reakce je opět acetaldehyd. Za fyziologických podmínek je však peroxid vodíku v buňkách přítomen jen ve velmi nízké koncentraci, a tudíž se kataláza podílí na metabolismu ethanolu v minimální míře. Významnější úlohu má kataláza v metabolismu ethanolu pouze v mozku, kde právě činností tohoto enzymu dochází ke zvýšení hladiny acetaldehydu v nervových buňkách, což je dáváno do souvislosti s nárůstem tolerance k alkoholu a vznikem závislosti (shrnutí v Cederbaum 2012). Acetaldehyd, společně s ethanolem, totiž stimuluje v mozku dopaminová centra odměny, čímž vede k navození pocitu štěstí v souvislosti s konzumací alkoholu, což je podstatou vzniku závislosti (Foddai et al. 2004).



Obr. 1: Schéma 3 hlavních enzymatických cest metabolismu alkoholu. Většina ethanolu je enzymem ADH (alkohol dehydrogenáza) oxidována na acetaldehyd. Jako kofaktor této reakce slouží NAD^+ (nikotinamidadenindinukleotid). Fyziologicky méně významná je pak oxidace ethanolu cytochromem P450 2E1 (CYP2E1) za účasti kofaktoru NADPH (nikotinamidadenindinukleotid fosfát), případně pomocí katalázy. Meziprodukt acetaldehyd, který vzniká ve všech popsanych reakcích, je následně v mitochondriích dále oxidován na acetát enzymem ALDH (aldehyd dehydrogenáza).

2.2. Faktory ovlivňující metabolismus alkoholu

Rychlost a míra absorpce ethanolu v gastrointestinálním traktu, jeho distribuce, metabolismus a vylučování mohou být ovlivněny řadou environmentálních a genetických faktorů. Jako příklad lze uvést zvýšení aktivity ADH, míry reoxidace NADH a průtoku krve játry v důsledku přítomnosti potravy v žaludku, čímž je ve výsledku urychlen metabolismus ethanolu (shrnutí v Cederbaum 2012). Mezi další faktory patří také pohlaví a věk. Rychlost metabolismu ethanolu je obecně nejvyšší u mladších mužů z důvodu vyšší koncentrace ADH v játrech a žaludku (Chrostek et al. 2003). V porovnání se ženami mají muži také méně tělesného tuku, respektive mají větší distribuční prostor. Při konzumaci stejného množství alkoholu tak mají oproti ženám nižší koncentraci alkoholu v krvi a dalších tkáních (Erol a Karpyak 2015).

Rychlost metabolismu ethanolu může být dále ovlivněna také, biologickými rytmy, mikrobiomem, užitím ethanolu společně s dalšími chemickými látkami, například tabákem, nebo jaterním onemocněním. Je zajímavé, že u alkoholiků je zpočátku metabolismus ethanolu zvýšen, zejména prostřednictvím indukce enzymů ADH a CYP2E1 a zvýšení míry reoxidace NADH. Následné poškození jater však metabolismus ethanolu spíše zpomaluje, čímž prodlužuje dobu jeho setrvání v organismu (shrnutí v Cederbaum 2012). V neposlední řadě může být rychlost metabolismu ethanolu ovlivněna genetickým pozadím jedince, zejména genovými polymorfismy. Enzymy transkribované z různých alel se od sebe mohou funkčně lišit a ovlivňovat tak rychlost vylučování ethanolu, případně jeho meziproduktu acetaldehydu. Tím je ovlivněna i doba expozice organismu těmto látkám, a tudíž i riziko rozvoje nádorového onemocnění (viz níže).

2.2.1. Genové varianty enzymů zapojených do metabolismu ethanolu

V lidském genomu se nachází 7 genů kódujících ADH a 18 genů kódujících ALDH, jejichž přepisem vznikají různé varianty těchto enzymů, tzv. isoenzymy. Důležitou úlohu v metabolismu ethanolu mají především isoenzymy ADH1B, ADH1C a ALDH2, přičemž alely kódující tyto isoenzymy se od sebe mohou odlišovat a nepřímo tak ovlivňovat rychlost metabolismu ethanolu (shrnutí v Hurley a Edenberg 2012).

2.2.1.1. Polymorfismy *ADH1B* a *ADH1C*

Geny *ADH1B* a *ADH1C*, které se nacházejí na čtvrtém chromozomu, kódují podjednotky pravděpodobně nejdůležitější třídy lidských ADH (shrnutí v Edenberg a McClintick 2018). V případě isoenzymu ADH1B byly dosud detekovány 3 různé genové varianty, přičemž nejvíce rozšířenou je alela označována jako *ADH1B*1* (arginin v pozicích 48 a 370). Bylo zjištěno, že konzumace alkoholu je u nositelů alely *ADH1B*1* spojena s vyšším rizikem karcinomu jícnu (Yang et al. 2010), neboť u jedinců homozygotních pro tuto alelu probíhá metabolismus ethanolu výrazně pomaleji v porovnání s jedinci nesoucími alely *ADH1B*2* (histidin v pozici 48) nebo *ADH1B*3* (cystein v pozici 370), (Chi et al. 2018; shrnutí v Edenberg a McClintick 2018; Yang et al. 2010). Naopak jedinci nesoucí alely *ADH1B*2* a *ADH1B*3* jsou z důvodu rychlejšího metabolismu ethanolu, a tedy i rychlejší produkce acetaldehydu v těle, méně náchylní k rozvoji alkoholismu a nemocí s ním spojených. Důvodem je akumulace acetaldehydu v těle, ke které jsou jedinci s tímto genotypem náchylní, neboť jejím následkem je rozvoj nepříjemných stavů, jako je zvýšení krevního tlaku, pocení nebo zčervenání. Tyto stavy se dostávají po konzumaci i malého množství alkoholu (Peng et al. 2014; shrnutí v Seitz a Stickel 2010; Zaso et al. 2018). Protektivně působící alela *ADH1B*2* je rozšířena především v severovýchodní v Asii nebo ve Skandinávii (Linneberg et al. 2010), zatímco u Evropanů, původních Američanů a Afričanů se příliš nevyskytuje (Li et al. 2011). Alela *ADH1B*3* je pak rozšířena zejména v Africe (Walter et al. 2018).

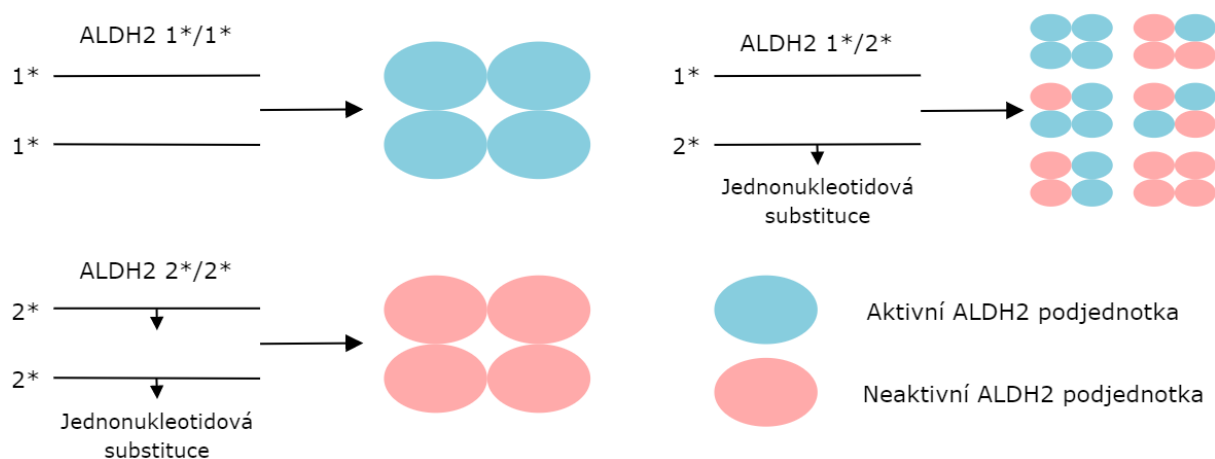
V souvislosti s genem pro ADH1C byly dosud identifikovány dvě hlavní alely; alela *ADH1C*1* (arginin v pozici 272, isoleucin v pozici 350) a alela *ADH1C*2* (glutamin v pozici 272, valin v pozici 350), přičemž enzym kódovaný alelou *ADH1C*1* se přinejmenším v *in vitro* podmínkách jeví jako aktivnější (Chi et al. 2018; shrnutí v Edenberg a McClintick 2018). Přítomnost této alelové varianty (*ADH1C*1*), která je rozšířena především v asijské populaci, je spojena s nižším rizikem vzniku závislosti na alkoholu, a tudíž i rozvojem nádorového onemocnění (Li et al. 2012). Obdobně jako u alel *ADH1B*2* a *ADH1B*3* je totiž i přítomnost alely *ADH1C*1* spojena s akumulací acetaldehydu. Jedinci nesoucí tuto alelu tedy většinou konzumují méně alkoholických nápojů.

2.2.1.2. Polymorfismus *ALDH2*

Geny kódující enzym ALDH2 se nacházejí na chromozomu 12 a jsou exprimovány ve všech tkáních, především pak v jaterní a tukové tkáni. Tento enzym je produkován ve dvou

variantách: běžnější alela *ALDH2*1* (glutamát v pozici 487) a alela kódující neaktivní enzym *ALDH2*2* (lysin v pozici 487), která je rozšířena především v Číně a Japonsku (shrnutí v Edenberg a McClintick 2018). Enzym ALDH2 funguje jako tetramer a bylo prokázáno, že přítomnost byť jen jednoho neaktivního monomeru *ALDH2*2* prakticky zcela inhibuje aktivitu tohoto enzymu (Zhou a Weiner 2000), (viz Obr. 2). Homozygoti nesoucí alelu *ALDH2*2* proto nejsou schopni tolerovat ani velmi malé množství alkoholu, neboť u nich dochází k výrazné akumulaci acetaldehydu (Higuchi et al. 1994). Vliv této alely na riziko rozvoje nádorového onemocnění je však třeba posuzovat individuálně, především v souvislosti s alelami genů pro enzymy ADH1B a ADH1C. Nejvyšší riziko rozvoje nádorového onemocnění mají totiž jedinci, u kterých dochází k výrazné akumulaci acetaldehydu z důvodu rychlejšího metabolismu ethanolu (alely *ADH1B*2*, *ADH1B*3* a *ADH1C*1*) a zároveň pomalejší eliminace acetaldehydu (alela *ALDH2*2*). Pokud tito jedinci konzumují alkohol, mají výrazně vyšší riziko nádorových onemocnění, například kolorektálního karcinomu (Crous-Bou et al. 2013), neboť acetaldehyd způsobuje poškození DNA a vede tak potenciálně k nádorové transformaci (viz dále), (Maejima et al. 2015).

Je zajímavé, že zvýšené riziko vzniku nádorového onemocnění v souvislosti s neaktivním enzymem ALDH2 může být sníženo podáním aktivátoru: agonisty ALDH2 (Alda-1). U myšího modelu homozygotního pro *ALDH2*2* bylo podání Alda-1 spojeno se snížením míry poškození DNA jícnových buněk v důsledku konzumace alkoholu. Na druhou stranu však může aktivace enzymu ALDH2 přispívat ke vzniku závislosti na alkoholu, neboť nedochází k akumulaci toxického acetaldehydu (Hirohashi et al. 2020).



Obr. 2: Varianty enzymu *ALDH2* tvořené různými podjednotkami v závislosti na alelové variantě genu *ALDH2*. Aktivní podjednotka enzymu *ALDH2* je kódována alelou *ALDH2*1*, zatímco neaktivní podjednotka je kódována alelou *ALDH2*2*.

Lze shrnout, že výsledné riziko vzniku nádorového onemocnění je podmíněno individuální kombinací alel, které se metabolismu ethanolu účastní. Alely kódující enzymy, které vedou k akumulaci acetaldehydu mohou nádorové transformaci předcházet, a to z důvodu nižší konzumace alkoholu. Pokud však tito jedinci i přes negativní působení acetaldehydu alkohol konzumují, k čemuž dochází například u jedinců s psychiatrickými chorobami, je u nich riziko vzniku nádorových

onemocnění naopak zvýšeno, neboť je u nich prodloužena doba setrvání acetaldehydu v organismu (Kimura et al. 2011).

2.2.2. Vliv mikrobiomu na metabolismus alkoholu

Důležitým faktorem ovlivňujícím metabolismus ethanolu je i mikrobiom, což je souhrnný název pro mikroorganismy (bakterie, houby a kvasinky) kolonizující lidský organismus. Recentně se ukázalo, že nerovnováha v zastoupení jednotlivých typů mikroorganismů, tzv. dysmikrobie, je spojena s rozvojem celé řady chorob včetně nádorových onemocnění (shrnutí v Rajagopala et al. 2017).

Po konzumaci alkoholu a jeho vstřebání v žaludku nebo duodenu dochází k distribuci ethanolu do všech tkání těla včetně slinných žláz. Zde dochází k lokálnímu zvýšení hladiny acetaldehydu, v důsledku metabolizace ethanolu bakteriálními ADH a/nebo katalázami (Tillonen et al. 1998), což má za následek výrazné zvýšení hladiny acetaldehydu ve slinách (v porovnání s krví), (Kurkivuori et al. 2007; shrnutí v Nieminen a Salaspuro 2018). Výsledná koncentrace acetaldehydu ve slinách je tak ovlivněna nejen koncentrací a množstvím požitého alkoholu, ale i složením ústního mikrobiomu (Moritani et al. 2015). Je zajímavé, že u častých konzumentů alkoholu dochází ke změnám v zastoupení jednotlivých typů mikroorganismů. Pozorováno bylo například zvýšení výskytu potenciálně patogenních druhů bakterií, *Streptococců* a *Neisserií*. Ty mají vyšší aktivitu ADH a jsou tak schopny rychleji metabolizovat ethanol na acetaldehyd, nicméně aktivita ALDH je u těchto druhů zcela nedetekovatelná (Muto et al. 2000; Pavlova et al. 2013). Zdá se, že změna mikrobiomu je zvláště výrazná u chronických alkoholiků, kteří současně kouří a/nebo mají špatnou hygienu ústní dutiny. Tito jedinci jsou v důsledku akumulace toxického acetaldehydu výrazně ohroženi rozvojem karcinomu ústní dutiny (Fan et al. 2018; Linderborg et al. 2011; Marttila et al. 2013).

3. Acetaldehyd

Acetaldehyd, který vzniká jako první meziprodukt v metabolismu ethanolu, a v malém množství je i součástí alkoholických nápojů, se vyskytuje také v některých potravinách a nápojích, například v jogurtech, ovoci, sýrech, kávě, ale i cigaretovém kouři a znečištěném vzduchu (Uebelacker a Lachenmeier 2011; Salaspuro et al. 2006). Koncentrace acetaldehydu je v souvislosti s konzumací alkoholu výrazně zvýšena především ve slinách, právě i v důsledku činnosti lokálního mikrobiomu (viz kapitola 2.2.2.). Schopnost acetaldehydu vést k rozvoji nádorových onemocnění vedla k jeho zařazení mezinárodní agenturou pro výzkum rakoviny (IARC; International Agency for Research on Cancer) do skupiny látek s prokázaným karcinogenním působením pro člověka (IARC 2010; Linderborg et al. 2011). Molekula acetaldehydu je vysoce reaktivní, může interagovat s nukleovými kyselinami, fosfolipidy i proteiny a způsobit tak transformaci normální buňky na buňku nádorovou (shrnutí v Zima 2018).

3.1. Poškození DNA v důsledku působení acetaldehydu

Jedním z hlavních mechanismů negativního působení acetaldehydu je jeho přímá vazba na molekulu DNA neboli vznik DNA aduktů, které mohou následně vést ke vzniku genových nebo chromozomových mutací. Mimo přímé adukce na DNA může acetaldehyd dále interagovat také s proteiny, které se podílí na udržování integrity DNA nebo regulaci genové exprese. Jedná se o enzymy, které se účastní opravy DNA (O^6 -methylguanin methyltransferáza), enzymy methylojící DNA (DNA methyltransferáza) nebo histony. Akumulace poškození DNA v důsledku působení acetaldehydu pak může následně vést k rozvoji nádorového onemocnění (shrnutí v Brooks a Zakhari 2014).

3.1.1. DNA adukty

Jak již bylo zmíněno výše, vazba molekuly acetaldehydu na DNA vede ke vzniku DNA aduktů, což jsou chemicky modifikované nukleotidy. Acetaldehyd se konkrétně může kovalentně vázat na exocyklickou aminoskupinu deoxyguanosinu (dG). Výsledná míra buněčného poškození v důsledku přítomnosti DNA aduktů závisí jak na jejich umístění v sekvenci DNA, tak i jejich množství, což mimo jiné závisí na délce působení acetaldehydu a reparační schopnosti buňky. Zásadní je však v tomto ohledu typ DNA aduktu, neboť jednotlivé typy DNA aduktů mohou indukovat různě závažná poškození DNA, jak je zobrazeno níže v Obr. 3. (Garaycochea et al. 2018; shrnutí v Yu et al. 2010).

3.1.1.1. N^2 -ethyliden-2'-deoxyguanosin

Jedním z nejčastěji se vyskytujících DNA aduktů je N^2 -ethyliden-2'-deoxyguanosin (N^2 -ethyliden-dG), který vzniká navázáním jedné molekuly acetaldehydu na dG. Za fyziologických podmínek je N^2 -ethyliden-dG relativně nestabilní, s biologickým poločasem přibližně 24 hodin. V organismu je běžně stabilizován pomocí redukčních činidel, například kyselinou askorbovou nebo glutathionem, na N^2 -ethyl-2'-deoxyguanosin (N^2 -Et-dG), (Fang a Vaca 1995; Wang et al. 2000). Stabilnější N^2 -Et-dG se od N^2 -ethyliden-dG liší přítomností jednoduché vazby na uhlíku C_α , která umožňuje rotaci kolem exocyklického dusíku a vazbu N^2 -Et-dG s komplementárním deoxycytidinem (dC) prostřednictvím třech vodíkových můstků, což je pro páry bazí G:C běžný typ párování. Nestabilní N^2 -ethyliden-dG může kvůli přítomnosti dvojné vazby na uhlíku C_α vázat dC pouze dvěma vodíkovými můstky, což má za následek nižší stabilitu tohoto páru bazí a náchylnost k mutacím, především mutacím měnícím čtecí rámec (Montgomery et al. 2013). Genotoxický potenciál aduktu N^2 -ethyliden-dG je však kvůli jeho nestabilitě poměrně nízký (Wang et al. 2006). Upton a kol. (2006) však prokázali, že mutageně může působit i stabilní adukt N^2 -Et-dG, a to prostřednictvím inhibice translezní DNA syntézy, tzn. replikace DNA v místech jejího poškození. V důsledku toho následně dochází k delečním mutacím s posunem čtecího rámce nebo transverzi G:C na T:A.

N²-ethyliden-dG, případně i N²-Et-dG, mohou sloužit jako důležité biologické markery pro stanovení míry expozice acetaldehydu a slouží mimo jiné pro analýzu míry poškození DNA (Yukawa et al. 2012). Koncentrace těchto látek v krvi a dutině ústní se po požití alkoholu může totiž navýšit až stonásobně, přičemž nejvyšších hladin je typicky dosaženo po 2 až 4 hodinách od jeho konzumace. K normálním hodnotám se hladiny těchto aduktů vrací již po 24 hodinách (Balbo et al. 2008; Balbo et al. 2012).

3.1.1.2. S- a R- α -methyl- γ -hydroxy-1,N²-propano-2'-deoxyguanosin

Navázáním dvou molekul acetaldehydu, případně crotonaldehydu, který vzniká kondenzací dvou molekul acetaldehydu, na dG vzniká další typ DNA aduktu, a to S- a R- α -methyl- γ -hydroxy-1,N²-propano-2'-deoxyguanosin (CrPdG), (Inagaki et al. 2004; Theruvathu et al. 2005; Wang et al. 2000). Poškození DNA závisí především na typu aduktu, neboť CrPdG vytváří dvě různé formy: uzavřenou, která se přednostně tvoří na jednořetězcové DNA (ssDNA: single-strand DNA) a otevřenou, která se vyskytuje především u dvouřetězcové DNA (dsDNA: double-strand DNA), (Garcia et al. 2011).

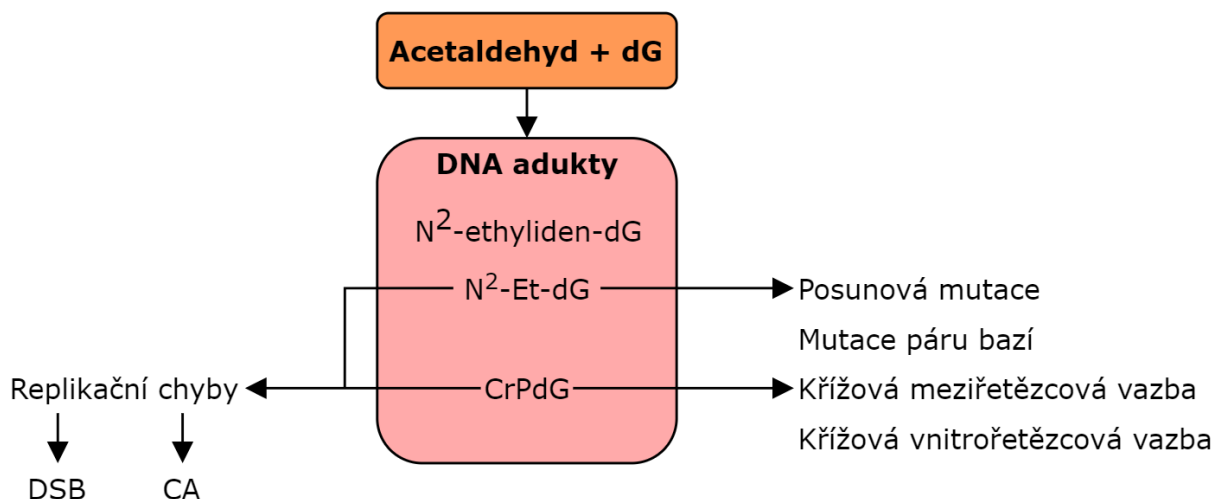
Uzavřená forma CrPdG, která se formuje na ssDNA v průběhu replikace, znemožňuje párování s komplementárním dC, čímž dochází k zastavení syntézy DNA. Replikace v místě aduktu je sice možná pomocí translezní syntézy, nicméně je často doprovázena vznikem mutací z důvodu zařazení nesprávné báze do komplementárního řetězce DNA. Nejčastěji dochází k transverzi G:C na T:A nebo G:C na C:G, možná je ale i tranzice G:C na A:T (Stein et al. 2006). Uzavřená forma aduktu CrPdG je častou příčinou mutací v antionkogenu *TP53* (Tumor protein p53) kódujícím protein p53, který je nezbytný pro zastavení buněčného cyklu v případě poškození DNA, případně indukcii apoptózy v potenciálně nádorových buňkách (Paget et al. 2008).

Pro otevřenou formu aduktu CrPdG, která nese reaktivní aldehydovou skupinu, je typická interakce s exocyklickým dusíkem dG sousedícího řetězce DNA, čímž dochází ke vzniku kovalentního propojení těchto řetězců, tzv. meziřetězcové křížové vazby (interstrand cross-link), (Cho et al. 2006). Vznik meziřetězcových DNA křížových vazeb inhibuje syntézu DNA, což může mít za následek vznik dvouřetězcových zlomů DNA a následný vznik delecí (shrnuto v Minko et al. 2009) nebo chromozomových aberací (Marietta et al. 2009). Otevřená forma CrPdG může vést také ke vzniku kovalentní vazby s dG v rámci jednoho řetězce DNA, tzv. vnitřetězcové křížové vazby (intrastrand cross-link), jejichž důsledkem pak může být vznik tandemových mutací GG na TT (Matsuda et al. 1998).

Otevřená forma aduktu CrPdG může dále kromě nukleových bází reagovat také s proteiny, konkrétně například s histony, nebo enzymy účastnícími se replikace DNA, za vzniku kovalentních vazeb mezi DNA a proteiny (DNA-protein crosslink), (Dexheimer et al. 2008; Kurtz a Lloyd 2003; Wang et al. 2000). DNA-proteinové crosslinky mohou, podobně jako DNA-DNA crosslinky, blokovat

replikaci DNA, čímž může docházet k dvouřetězcovým zlomům DNA nebo chromozomovým aberacím (shrnutí v Brooks a Zakhari 2014).

Poškození DNA způsobené vznikem aduktu CrPdG může být opraveno pomocí nukleotidové excizní opravy (NER; Nucleotide Excision Repair), při které endonukleázové podjednotky proteinů zajišťujících NER rozpoznají a vyšťepí DNA adukt (Choudhury et al. 2004). Adukty CrPdG tvořící křížovou vazbu mezi dvěma komplementárními řetězci DNA lze opravit dráhou Fanconioho anémie, při které dochází k opravě DNA pomocí homologní rekombinace (Hodkinson et al. 2020).



Obr. 3: Souhrn možných poškození DNA způsobených acetaldehydem. Adukce acetaldehydu na DNA vede ke vzniku různých typů DNA aduktů, které mohou indukovat posunové mutace, vznik křížových vazeb v rámci jednoho řetězce nebo mezi dvěma řetězci molekuly DNA. Za vznik replikačních chyb a následně vznikající dvou vláknové zlomy DNA (DSB) či chromozomální aberace (CA), je zodpovědný acetaldehyd různými adukty. Nejčastěji se vyskytující adukt *N*²-ethyliden-2'-deoxyguanosin (*N*²-ethyliden-dG) se může redukovat na *N*²-ethyl-2'-deoxyguanosin (*N*²-Et-dG). Mezi další acetaldehydové DNA adukty patří *S*- a *R*- α -methyl- γ -hydroxy-1,*N*²-propano-2'-deoxyguanosin (CrPdG), který vznikl navázáním dvou molekul acetaldehydu.

3.1.1.3. DNA adukt tvořící dimery GG

Nedávno byl objeven také nový typ DNA aduktu, který však zatím není příliš detailně prostudován. Tento adukt vede prostřednictvím acetaldehydu k reverzibilnímu propojení aminoskupin sousedních dG v rámci stejného řetězce DNA za vzniku dimeru GG. Nestabilní dimer GG následně podléhá redukci za vzniku stabilního produktu, tj. molekuly *N*²-Et-dG na 3' nebo 5' konci GG sekvence (Sonohara et al. 2019). Přítomnost dimerů GG v buňce během replikace DNA znemožňuje zařazení dC naproti tomuto dimeru v komplementárním řetězci DNA běžnými DNA-polymerázami. Následně tak dochází k zastavení procesu replikace DNA a vzniku jednořetězcových zlomů DNA. Replikaci v místech GG dimerů je možné obejít translezními DNA polymerázami, např. polymerázou η , které však naproti dimeru GG standardně zařazují deoxyadenosin (dA), čímž dochází k transverzi dimeru GG:CC na TT:AA (Alexandrov et al. 2013; Matsuda et al. 1998; Tsuruta et al. 2020). Mimo zastavení replikace DNA mohou dimery GG také blokovat transkripci, a to prostřednictvím inhibice posunu RNA polymerázy II podél řetězce DNA (Sonohara et al. 2019; Tornaletti 2005).

3.1.2. Proteinové adukty

Kromě přímé vazby na dG v molekule DNA může acetaldehyd nepřímo negativně ovlivňovat genom také interakcí s proteiny, které se účastní opravy DNA, a udržují tak její integritu. Acetaldehyd například přechodně inhibuje aktivitu opravného enzymu O⁶-methylguanin methyltransferázy (MGMT), která se za normálních podmínek podílí na reparaci poškození DNA v důsledku alkylace. Tím acetaldehyd ve výsledku zvyšuje pravděpodobnost trvalého poškození DNA a nádorové transformace (Espina et al. 1988; Sinha et al. 2013). Přesný mechanismus inhibice MGMT není dosud zcela objasněn, nicméně hypotéza o přímé vazbě acetaldehydu do aktivního místa enzymu nebyla dosud potvrzena (shrnuje v Brooks a Zakhari 2014). Na druhou stranu může být inhibice MGMT v nádorových buňkách využívána ke zvýšení účinnosti alkylačních cytostatik, čehož je využíváno především v terapii karcinomu prsu nebo glioblastomu (Bobustuc et al. 2018; Rahman et al. 2019).

Acetaldehyd může dále ovlivňovat i genovou expresi, a to přímou interakcí s enzymy účastnícími se methylace DNA (viz kapitola 4.2.1.) nebo s histony, které se podílí na stavbě chromatinu. Zdá se, že přinejmenším v *in vitro* podmínkách dochází k interakci acetaldehydu s histony primárně na C-terminálním konci histonu H1, konkrétně na aminoskupině lysinu, neboť ta je nejvíce přístupná pro různé reakce. Vazba acetaldehydu k lysinu pak inhibuje vazbu histonu H1 k DNA, což má za následek destabilizaci struktury chromatinu a deregulaci genové exprese, případně i opravy DNA (Niemela et al. 1990; Tan et al. 2011; Wang et al. 2004). V nedávné studii bylo také zjištěno, že expozice acetaldehydu snižuje v buňce acetylaci lysinových zbytků i na N-konci histonů H3 a H4. Tím je narušeno sestavování nukleozomu a následně i formování chromatinu (Chen et al. 2018).

Závěrem lze shrnout, že hlavním karcinogenním mechanismem je v souvislosti s konzumací alkoholu adukce acetaldehydu na DNA, případně na proteiny. Výsledná míra buněčného poškození je dána především typem DNA aduktu a současně závisí i na reparační schopnosti buňky, která však může být v důsledku působení acetaldehydu narušena.

4. Další mechanismy ovlivňující karcinogenezi

Kromě DNA aduktů vznikajících přímým působením acetaldehydu na DNA může alkohol přispívat k rozvoji nádorového onemocnění i celou řadou dalších mechanismů včetně zvýšení míry oxidačního stresu, ovlivnění procesu methylace DNA nebo interakce s metabolismem kyseliny retinové.

4.1. Oxidační stres

Oxidační stres v buňce typicky vzniká při nerovnováze mezi tvorbou reaktivních kyslíkových radikálů (ROS; Reactive oxygen species), což jsou radikály, ionty nebo molekuly obsahující nepárový elektron, a kapacitou antioxidantních mechanismů buňky (shrnuje v Sies et al. 2017). Zdá se, že právě zvýšení míry oxidačního stresu v důsledku konzumace alkoholu hraje důležitou úlohu v rozvoji

karcinomu jater, neboť hladina acetaldehydu je v této tkáni z důvodu přítomnosti efektivních mechanismů eliminujících acetaldehyd poměrně nízká. Zvýšení míry oxidačního stresu má za následek poškození buněčných makromolekul, především lipidů, proteinů a nukleových kyselin, což může přispívat k nádorové transformaci. Na druhou stranu však může výrazné zvýšení hladiny ROS v buňce indukovat buněčnou smrt, čehož lze využít i v terapii nádorových onemocnění (shrnuť v Moloney a Cotter 2018).

4.1.1. Úloha alkoholu v indukci oxidačního stresu

Ke zvýšení míry oxidačního stresu, respektive zvýšení produkce ROS, v důsledku konzumace alkoholu může docházet prostřednictvím několika enzymatických systémů včetně cytochromu CYP2E1, který se účastní metabolismu ethanolu (viz kapitola 2.1.2.). Významné množství ROS však může vznikat i aktivitou enzymů mitochondriálního dýchacího řetězce.

4.1.1.1. Produkce ROS cytochromem CYP2E1

Jak již bylo zmíněno výše, zvýšená produkce ROS je v souvislosti s konzumací alkoholu dána především indukcí aktivity enzymu CYP2E1, přičemž chronická konzumace alkoholu vede ke zvýšení hladiny CYP2E1 v játrech až 20x, a to již po jednom týdnu denního příjmu 40 g ethanolu, tj. přibližně 1 litru piva (Oneta et al. 2002). Zvýšená míra produkce ROS tímto enzymem souvisí s jeho vysokou NADPH oxidázovou aktivitou, kdy dochází k přenosu elektronu z NADPH na kyslík, což je doprovázeno vznikem ROS, například superoxidového aniontu ($O_2^{\cdot-}$), peroxidu vodíku (H_2O_2), případně hydroxylového radikálu (OH^{\cdot}), (Oneta et al. 2002; Rashba-Step et al. 1993). Výsledné poškození buňky v důsledku zvýšené hladiny ROS souvisí také s lokalizací CYP2E1, která může být mikrozomální (mikrozomy vznikají z endoplazmatického retikula) nebo mitochondriální. Je pravděpodobné, že zvýšení míry oxidačního stresu v souvislosti s konzumací alkoholu je dáno především aktivitou mitochondriálního CYP2E1. Možným vysvětlením je narušení mitochondriálního dýchacího řetězce působením ROS, což dále přispívá k produkci ROS mitochondriemi (viz následující kapitola), případně snížená funkce enzymů mitochondriálního dýchacího řetězce. U jedinců s převažující mitochondriální lokalizací CYP2E1 byla totiž často pozorována snížená aktivita cytochrom c oxidázy (Bansal et al. 2013).

Bylo zjištěno, že konzumace alkoholu také zvyšuje translokaci CYP2E1 do mitochondrie, a to na základě N-terminální sekvence proteinu. Ethanol totiž specificky aktivuje proteinkinázu A, která následně fosforyluje serin v pozici 129 v rámci N-terminální sekvence CYP2E1. Tím dochází ke zvýšení afinity CYP2E1 k cytosolickému Heat shock proteinu 70, který se podílí na transportu CYP2E1 do mitochondrie (Robin et al. 2002; Robin et al. 2005). Distribuce CYP2E1 v rámci zmíněných organel je také dána genetickým pozadím jedince. Substituční mutace vedoucí k záměně tryptofanu v pozici 23 a/nebo 30 za kladně nabitý arginin v N-terminální sekvenci proteinu jsou spojeny s nižší afinitou enzymu CYP2E1 k částici rozpoznávající signál (SRP; Signal recognition

particle). To je ve výsledku spojeno s přednostním zacílením CYP2E1 do mitochondrií oproti endoplasmatickému retikulu (Bansal et al. 2010; Bansal et al. 2013).

Přestože hlavním místem produkce CYP2E1 jsou především játra, lze tento enzym nalézt v celé řadě dalších tkání včetně jícnu, tlustého střeva nebo prsu, přičemž Leung a kol. (2013) zjistili, že indukce CYP2E1 v buňkách prsu v důsledku konzumace alkoholu, může souviset s progresí nádorového onemocnění a tvorbou metastáz. Význam CYP2E1 v produkci ROS u konzumentů alkoholu a následné karcinogeneze potvrzují také pokusy, ve kterých zvýšení aktivity tohoto enzymu přispívalo k rozvoji nádorového onemocnění, zatímco jeho inhibice pomocí chlormethioazolu nebo zvýšení antioxidačně působícího α -tokoferolu rozvoji nádorového onemocnění naopak předcházelo (Caro et al. 2011; Ye et al. 2012).

4.1.1.2. Produkce ROS v mitochondriích

Kromě výše zmíněného CYP2E1 může alkohol indukovat produkci ROS i v mitochondriích. Obecně lze říci, že mitochondrie jsou vůbec největším producentem ROS v buňce, neboť v nich probíhá dýchací řetězec. Během dýchacího řetězce dochází k přenosu elektronů a tvorbě protonového gradientu, který je pak následně využit pro syntézu adenosintrifosfátu (shrnutí v Venditti a Di Meo 2020).

Vedlejším produktem reakcí dýchacího řetězce jsou ROS, jejichž tvorba je v důsledku konzumace alkoholu zvýšena. Mechanismem zvýšené produkce ROS může být vyšší míra reoxidace NADH, který se v buňce akumuluje při metabolizaci ethanolu enzymy ADH a ALDH (viz kapitola 2.1.1.). Pro opětovné využití NADH v dalších reakcích, je důležitá jeho regenerace na NAD, která probíhá v mitochondriích (Han et al. 2017). Zvýšená koncentrace NADH v buňce zvyšuje aktivitu komplexů dýchacího řetězce, což má za následek zvýšení produkce ROS, především $O_2^{\cdot-}$ v mitochondriálních komplexech I (NADH dehydrogenáza) a III (cytochrom bc1). Radikál $O_2^{\cdot-}$ může být následně pomocí superoxid dismutáz převeden na peroxid vodíku, který může přecházet do cytosolu a vytvářet reaktivnější hydroxylový radikál (Han et al. 2001; Merkofer et al. 2006).

Při regeneraci NADH a následném zrychlení dýchacího řetězce může předchodně docházet ke vzniku hypoxie, a to především v pericentrální oblasti jater. Právě zde totiž bývá snížena dostupnost kyslíku, který je v dýchacím řetězci nezbytný pro dokončení přenosu elektronů (Arteel et al. 1997; Han et al. 2017). Přechodná hypoxie, kterou často následně střídá zvýšená dostupnost kyslíku, může dále zvyšovat produkci ROS, zejména prostřednictvím mitochondriálního komplexu I. Ten má velmi pomalý přechod z aktivního do inaktivního stavu a při snížení dostupnosti kyslíku tak nadměrně produkuje ROS (Gorenkova et al. 2013).

Závěrem je třeba říci, že kromě zvýšení produkce ROS, přispívá alkohol ke zvýšení míry oxidačního stresu také snížením míry antioxidační ochrany buňky vyčerpáním endogenních antioxidantů, jako je glutathion (Ahmad et al. 2012). Snížena může být však také hladina antioxidačně

působících látek exogenního původu, například vitamínu E nebo C, a to často jen z důvodu nevhodných stravovacích návyků, které chronický alkoholismus typicky doprovázejí (Suzuki et al. 2006).

4.1.2. Peroxidace lipidů

Jak již bylo řečeno výše, zvýšení míry oxidačního stresu je spojeno s poškozením buněčných molekul. Významným se v souvislosti s nádorovou transformací jeví především narušení struktury membránových lipidů, respektive fosfolipidů, u kterých dochází v důsledku peroxidace (viz dále) ke ztrátě jejich funkce, snížení fluidity membrány, zvýšení její propustnosti, což může být doprovázeno i ztrátou funkce membránových proteinů (shrnutí v Ayala et al. 2014).

Peroxidaci fosfolipidů mohou iniciovat volné radikály, především pak hydroxylový radikál ($\text{OH}\cdot$), který je nejvíce reaktivní a může vznikat činností cytochomu CYP2E1. V prvním kroku peroxidace lipidů atakuje hydroxylový radikál atom vodíku v mastné kyselině, nejčastěji v oblasti přímo sousedící s dvojnou vazbou. Postiženy jsou tedy primárně polynenasycené mastné kyseliny. Vznikající lipidový radikál následně spontánně reaguje s kyslíkem za vzniku lipoperoxylového radikálu. Vysoce reaktivní lipoperoxylový radikál pak může dále reagovat s dalšími nenasycenými mastnými kyselinami v okolí a iniciovat tak řetězovou radikálovou reakci. Konečnými primárními produkty peroxidace lipidů jsou hydroperoxy, které jsou však velmi nestabilní a spontánně se rozkládají na peroxylový a alkoxylový radikál (shrnutí v Gentile et al. 2017). Tyto látky, pokud nejsou neutralizovány, mohou vést ke vzniku aldehydů, zejména 4-hydroxy-2-nonenalu (HNE) a méně reaktivního malondialdehydu (MDA), (Garcia et al. 2011; Kawai et al. 2007; Spiteller et al. 2001). Ty mohou následně interagovat s nukleotidy v DNA a vést k tvorbě mutagenních exocyklických DNA aduktů (Millonig et al. 2011).

4.1.2.1. Adukce produktů peroxidace lipidů na DNA

Reakcí HNE s nukleotidy v DNA vznikají tři hlavní etheno-DNA adukty. Konkrétně reakcí HNE a dA vzniká 1,N⁶-etheno-2'-deoxyadenosin (ϵdA), reakcí HNE s dC vzniká 3,N⁴-etheno-2'-deoxycytidin (ϵdC) a reakcí HNE s dG vzniká 1,N²-etheno-2'-deoxyguanosin (N ϵ G). Tyto adukty mají výrazný mutagenní potenciál, přičemž nejčastějším typem vznikajících mutací jsou substituční mutace. Přítomnost těchto aduktů v DNA má totiž za následek zastavení replikace DNA, a to prostřednictvím blokace replikativních DNA polymeráz (Choi et al. 2006b; Gros et al. 2004; Hang et al. 2003). V důsledku zastavení replikace pak může docházet ke vzniku dvouřetězcových zlomů, přičemž jejich opravení translezními DNA polymerázami je častou příčinou vzniku mutací. Tyto polymerázy, zejména pak DNA polymeráza α , mohou totiž do komplementárního řetězce DNA naproti DNA aduktu zařadit nesprávný nukleotid (Choi a Guengerich 2005; Choi et al. 2006a). Adukt ϵdA tak může způsobovat tranzici A:T na G:C nebo transverzi A:T na C:G, případně A:T na T:A. Adukt ϵdC vede nejčastěji k transverzi C:G na A:T, tranzici C:G na T:A případně delecí jednoho nebo dvou párů bází (Hu 2002; Levine et al. 2000). V souvislosti s aduktem N ϵ G byla pozorována tranzice G:C na

A:T, deleční mutace, případně přeskupení aduktu do otevřené formy. To může, podobně jako v případě dříve zmíněného aduktu CrPdG (viz kapitola 3.1.1.2.), vést k interkaci pozměněného nukleotidu se sousedním řetězcem DNA a vzniku meziřetězcových křížových vazeb (Akasaka a Guengerich 1999).

Tvorba zmíněných etheno-DNA aduktů byla například pozorována specificky v kodonu 249 genu *TP53*, který kóduje antionkogen p53. Toto místo bylo detekováno jako časté místo vzniku mutací, zejména u buněk karcinomu jater. V důsledku inaktivační mutace v tomto genu dochází ke zvýšení proliferační aktivity buňky, zvýšení odolnosti vůči apoptóze, a tedy potenciálně i k nádorové transformaci (Hu et al. 2002).

Jiným genem, který je často mutován v důsledku působení etheno-DNA aduktů, je onkogen Ras, který je součástí signální dráhy MAPK/ERK (Mitogenem aktivované protein kinázy/Extracelulárně regulované kinázy) a je zásadní pro aktivaci buněčné proliferace a migrace. Konkrétně byla v souvislosti s aduktem edA pozorována tranverze A:T na T:A v kodonu 61 genu pro Ras. Ta byla spojena se zvýšenou aktivací tohoto proteinu z důvodu snížení GTPázové aktivity (GTP; Guanosintrifosfát) a tedy konstitutivní aktivací této signální dráhy (Drosten et al. 2010; Levine et al. 2000).

Lze shrnout, že peroxidace lipidů a následné poškození DNA je pravděpodobně hlavním mechanismem působení ROS v důsledku zvýšené míry oxidačního stresu při konzumaci alkoholu. Kromě poškození lipidů však mohou ROS přímo negativně ovlivňovat i funkci proteinů, například methionin adenosyltransferázy, která je zapojena do procesu methylace DNA (viz kapitola 4.2.1.).

4.2. Methylace DNA

Methylace DNA, tj. připojení methylové skupiny ($-\text{CH}_3$) k nukleotidům v molekule DNA, je důležitým mechanismem regulujícím genovou expresi. Zvýšení míry methylace (hypermethylace) DNA vede zpravidla ke snížení genové exprese, zatímco její snížení (hypomethylace) expresi příslušných genů zvyšuje. Změny v míře methylace DNA, konkrétně hypomethylace onkogenů a hypermethylace antionkogenů mohou souviset s rozvojem nádorových onemocnění (shrnutí v Vishnudutt Purohit et al. 2013). Methylace DNA může být ovlivněna řadou enviromentálních faktorů včetně konzumace alkoholu, který může do procesu methylace zasahovat hned několika různými mechanismy (viz Obr. 4).

4.2.1. Úloha alkoholu v procesu methylace DNA

Pro proces methylace DNA je zvláště důležitá dostatečná intracelulární koncentrace S-adenosylmethioninu (SAM), který je donorem methylové skupiny. Chronická konzumace alkoholických nápojů je často spojena se snížením koncentrace SAM, neboť dochází ke snížení aktivity methionin adenosyltransferázy (MAT), která katalyzuje syntézu SAM z methioninu a adenosintrifosfátu. Jedním z mechanismů, kterým ethanol ovlivňuje aktivitu MAT, je zvýšení míry

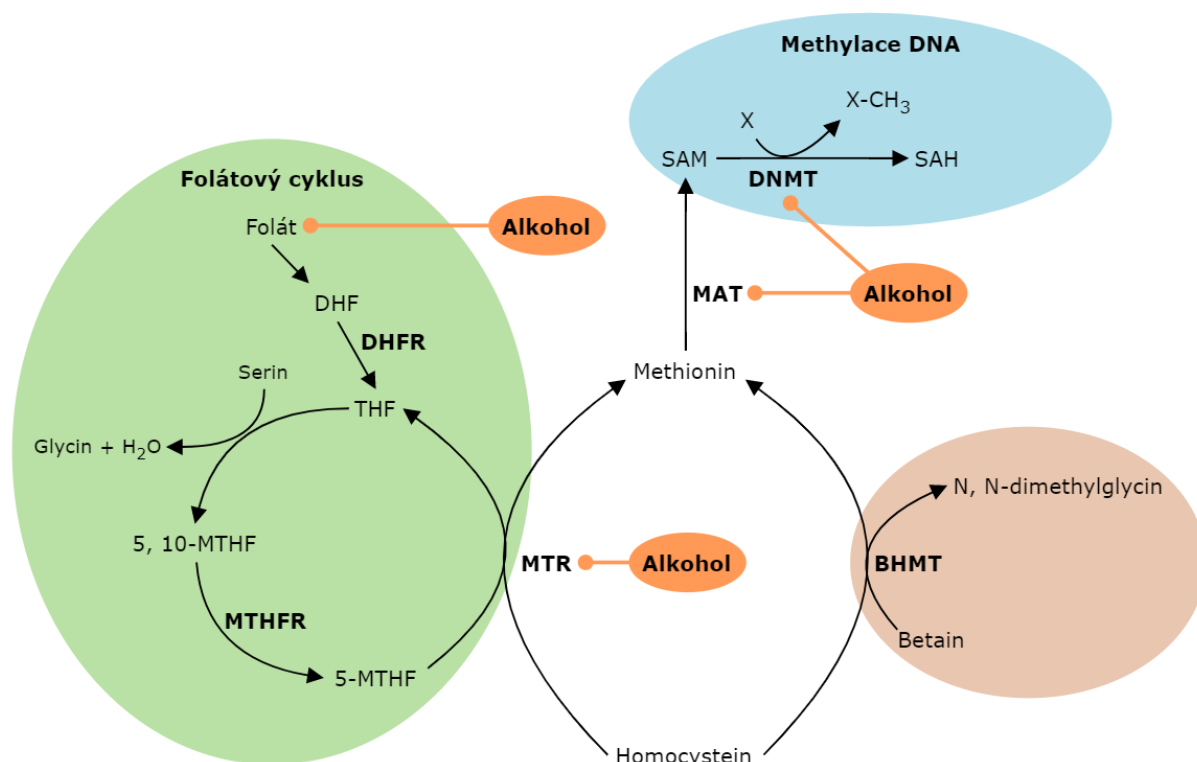
oxidačního stresu (viz kapitola 4.1.). Během oxidačního stresu totiž vznikají vysoce reaktivní hydroxylové radikály, které mohou tento enzym inhibovat. V souvislosti s konzumací alkoholu byla prokázána především inhibice aktivity isoenzymů MATI a MATIII, které se vyskytují v buňkách jater. K jejich inhibici dochází oxidací cysteinových zbytků v enzymu v důsledku působení výše zmíněných hydroxylových radikálů, případně i superoxidového aniontu. Významná je především oxidace cysteinu 121, který se nachází ve flexibilní smyčce v blízkosti aktivního místa MATI a MATIII, což má za následek změnu konformace těchto enzymů a zabránění vstupu substrátu do aktivního místa. Tím ve výsledku dochází ke snížení jejich enzymatické aktivity (Pérez-Mato et al. 1999; Sánchez-góngora et al. 1997; Zhuge a Cederbaum 2007). Lee a kol. (2004) také zjistili, že chronická konzumace alkoholu může vést ke snížení jaterní exprese genu *MAT1A*, tj. genu kódujícího isoenzymy MATI a MATIII, a to až o 50 %. Ve výsledku je pak snížení aktivity a/nebo hladiny MAT spojeno se snížením buněčné koncentrace SAM, a tudíž i snížením míry methylace DNA (Lu et al. 2000).

Míra methylace DNA může být u častých konzumentů alkoholu ovlivněna také změnou aktivity enzymu DNA methyltransferázy (DNMT). DNMT je důležitý enzym, který katalyzuje přenos methylové skupiny ze SAM na 5. atom uhlíku pyrimidinového kruhu dC. Tento dC obvykle následuje v sekvenci DNA po dG a vytváří dinukleotidové oblasti označované jako CpG (Cytosine-phosphate-Guanine) ostrůvky. Pro *de novo* metylaci jsou zvláště důležité geny *DNMT3a* a *DNMT3b*, které se nacházejí na chromozomu 2 a 20. Konzumace alkoholu je spojena se snížením exprese zmíněných genů, případně i adukcí acetaldehydu na DNMT, což je spojeno s inhibicí enzymatické aktivity (Bönsch et al. 2006; Garro et al. 1991).

Využitím methylové skupiny SAM dochází k jeho přeměně na S-adenosylhomocystein (SAH), který je následně dále degradován na homocystein. Opětovné využití SAM v methylačních reakcích je umožněno regenerací methioninu z homocysteinu, pro kterou je potřebná kyselina listová (folát) fungující v této reakci jako donor methylové skupiny. U chronických alkoholiků je typicky koncentrace folátu snížena, a to pravděpodobně z důvodu snížení absorpce ve střevě. Mechanismus omezené absorpce folátu spočívá konkrétně ve snížení genové exprese transportních proteinů folátu: folátového transportéru spojeného s elektrony (PCFT; Proton-coupled folate transporter) a redukováného folátového přenašeče (RFC; Reduced folate carrier). Tyto proteiny jsou lokalizovány v lipidových raftech apikálních membrán enterocytů, kde zprostředkovávají transport folátu z lumen střeva. Kromě toho může ethanol ovlivňovat také složení buněčných membrán enterocytů, pravděpodobně prostřednictvím peroxidace lipidů (viz kapitola 4.1.2.), a tím narušovat složení lipidových raftů. To může následně ovlivnit funkci těchto transportérů pravděpodobně jejich sníženou asociací s lipidovými rafty (Wani a Kaur 2011). Důsledkem snížení dostupnosti folátu v organismu je pak snížení hladiny methioninu a následně i SAM (Stempak et al. 2005).

Pro přeměnu homocysteinu na methionin je, kromě folátu ve formě N5-methyltetrahydrofolátu, zapotřebí také methionin syntáza (MTR), která tuto reakci katalyzuje.

Bylo prokázáno, že působením ethanolu dochází i ke snížení hladiny MTR, a to přes snížení genové exprese MTR v játrech, což vede ve výsledku ke snížení koncentrace methioninu a SAM (Kenyon et al. 1998; Lee et al. 2004). Alternativně může být při snížení hladiny MTR tato reakce katalyzována pomocí betain homocystein methyltransferázy (BHMT), která jako donor methylové skupiny využívá betain, nikoli kyselinu listovou. Zdá se však, že tento alternativní mechanismus není v *in vivo* podmínkách příliš významný, neboť nedokáže zajistit potřebnou koncentraci methioninu pro methylační reakce (Barak et al. 1996).



Obr. 4: Metabolické reakce v procesu methylace DNA a jejich ovlivnění alkoholem. S-adenosylmethionin (SAM), který slouží jako donor methylové skupiny v procesu methylace DNA je syntetizován z methioninu v reakci katalyzované methionin adenosyltransferázou (MAT). Vlastní přenos methylové skupiny ze SAM na cytosin v molekule DNA je katalyzován DNA methyltransferázou (DNMT). Po odštěpení methylové skupiny vzniká ze SAM S-adenosylhomocystein (SAH). Homocystein může být opětovně remethylován, a to primárně enzymem methionin syntázou (MTR), nebo alternativně enzymem betain homocysteinmethyltransferázou (BHMT), která využívá jako donor betain. Při remethylaci enzymem MTR dochází k navázání methylové skupiny z 5-methyltetrahydrofolátu (5-MTHF), který je aktivní formou folátu vznikající ve folátovém cyklu. Další molekuly nacházející se ve folátovém cyklu: DHF: dihydrofolát, DHFR: dihydrofolát reduktáza, THF: tetrahydrofolát; 5, 10-MTHF: 5,10-methylenetetrahydrofolát; MTHFR: methylenetetrahydrofolát reduktáza.

4.2.2. Methylace DNA a rozvoj nádorových onemocnění

Jak již bylo popsáno v předchozí kapitole, konzumace alkoholu je spojena se snížením intracelulární dostupnosti SAM, zvýšenou koncentrací SAH a homocysteinu, neboť je snížena jeho regenerace na methionin. Tím ve výsledku dochází k poruše procesu methylace DNA, především ve smyslu jejího snížení. Udává se, že v nádorových buňkách může být celková míra methylace genomu snížena až o 60 %. Hypomethylace se vyskytuje zejména v oblastech promotorů onkogenů a je typicky spojena s aktivací genové exprese, a tedy i zvýšením rizika nádorové transformace (shrnutí v Varela-Rey et al. 2012). Globální hypomethylace genomu je navíc spojena i se zvýšením genomové

nestability, například tvorbou zlomů DNA, což může dále přispívat k rozvoji nádorových onemocnění (Sheaffer et al. 2016).

4.2.2.1. Hypomethylace onkogenů

Alkholem indukovaná globální hypomethylace DNA hraje důležitou úlohu například v rozvoji karcinomu prsu, jednoho z nejčastějších nádorových onemocnění u žen. Wilson a kol. (2019) recentně v rámci celoepigénomové asociační studie detekovali v buňkách normální prsní tkáně několik genů, jejichž míra methylace je v důsledku konzumace alkoholu snížena.

Mezi tyto geny patří například gen kódující podjednotku integrinu $\alpha 6$ (ITGA6; Integrin subunit $\alpha 6$), který se podílí na regulaci buněčné adheze a migrace, čímž může napomáhat přežívání a invazivitě nádorových buněk. Zvýšení exprese tohoto genu v důsledku hypomethylace tak může přispívat k tvorbě sekundárních nádorových ložisek, tzv. metastáz (Hu et al. 2016; Wilson et al. 2019). Dalším příkladem genu, u kterého dochází v důsledku konzumace alkoholu k hypomethylaci, je i protoonkogen A podobný Ras (RALA; RAS-like proto-oncogene A), jehož produkt patří do rodiny Ras proteinů (Wilson et al. 2019). Tyto proteiny váží GTP a jsou součástí různých signálních drah, například signální dráhy MAPK/ERK (viz kapitola 4.1.2.1.), která se podílí na regulaci buněčné proliferace (Gu et al. 2016; Ranganathan et al. 2006). V důsledku aktivace signální dráhy MAPK/ERK dochází mimo jiné ke zvýšení exprese protoonkogenů c-Fos a c-Jun, které společně tvoří aktivační protein-1 (AP-1). AP-1 je transkripční faktor regulující expresi genů, jejichž produkty se účastní buněčné proliferace, diferenciace nebo apoptózy. Zvýšení exprese AP-1 je často pozorováno u nádorových buněk včetně karcinomu prsu (Shen et al. 2008).

Hypomethylace byla pozorována také v promotorové oblasti genu kódujícího protein Src homolog 3 obsahující doménu 21 (SH3D21; Src homology 3 domain containing 21), který je součástí Src kinázy (Src; Sarcoma kinase), (Wilson et al. 2019). Ta je zapojena do intracelulární signální dráhy zajišťující buněčné přežívání, migraci a zvýšení její exprese v důsledku hypomethylace může zvyšovat invazivitu buněk a přispívat k rozvoji metastáz (Morton et al. 2010). Konzumace alkoholu může vést i ke snížení míry methylace genu kódujícího peptidyl-prolyl cis-trans izomerázu (PPIF; Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase), která mění konformaci proteinů (Wilson et al. 2019). Tím může být ovlivněna funkce a stabilita proteinů, včetně produktů onkogenů a antionkogenů, což může následně hrát roli při rozvoji nádorového onemocnění (Karna et al. 2019). Hypomethylace zmíněných genů byla v rámci studie detekována i v buňkách karcinomu prsu ve srovnání s normální tkání, což naznačuje potenciální souvislost mezi snížením míry methylace těchto genů v důsledku konzumace alkoholu a rozvojem karcinomu prsu (Wilson et al. 2019).

4.2.2.2. Hypermethylace antionkogenů

Přestože je chronické užívání alkoholu doprovázeno globální hypomethylací genomové DNA v důsledku inhibice procesu methylace DNA, zdá se, že u anti-onkogenů, jejichž produkty inhibují

buněčnou proliferaci, k hypomethylaci nedochází (Choi et al. 1999). Naopak, CpG oblasti v promotorech těchto genů jsou v nádorových buňkách často hypermethylované. Možným vysvětlením mechanismu lokální hypermethylace je zvýšení exprese genů pro *de novo* DNMT, především pak DNMT3a, v důsledku působení ethanolu. V metabolismu ethanolu totiž dochází ke zvýšení produkce ROS, které souvisí se zvýšením exprese enzymu DNMT3a dosud neidentifikovaným mechanismem (Miozzo et al. 2018).

Příkladem genu, jehož promotor je v důsledku konzumace alkoholu často hypermethylován, je *MGMT*, která se účastní oprav DNA. Konkrétně se *MGMT* podílí na odstraňování mutagenních methylových nebo alkylových skupin z dG, jež mimo jiné mohou vznikat i působením acetaldehydu (viz kapitola 3.1.1.). Snížení exprese genu pro *MGMT* v důsledku hypermethylace je tak spojeno se sníženou schopností buňky opravovat poškození DNA, což může přispívat k rozvoji nádorového onemocnění (Puri et al. 2005; Zhao et al. 2014).

Dalšími geny, jejichž hypermethylace je spojena s rozvojem nádorových onemocnění, jsou anti-onkogeny *BRCA1* a *BRCA2* (BRCA; Breast cancer susceptibility gene 1/2). Jejich mutace významným způsobem zvyšují riziko vzniku hereditární formy karcinomu prsu u žen. *BRCA1* a *BRCA2* se účastní oprav zlomů DNA, které mohou být indukovány ve zvýšené míře i působením alkoholu (viz kapitola 3.1.1.). Konzumace alkoholu je tedy významným rizikovým faktorem rozvoje karcinomu prsu, a to dle recentní metaanalýzy již ve velmi malém množství (Choi et al. 2018). V nádorových buňkách karcinomu prsu je velmi často pozorována hypomethylace CpG ostrůvků v promotorech těchto genů, která vede k jejich inaktivaci. U žen, které jsou nositelkami mutací v genech *BRCA1* a *BRCA2* a zároveň konzumují alkohol, tak teoreticky může docházet jak ke snížení funkce produktů těchto genů v důsledku mutace, tak i snížení jejich exprese. Je však zajímavé, že zatímco riziko rozvoje karcinomu prsu u žen s mutací *BRCA2* je při konzumaci alkoholu skutečně zvýšeno, u žen s mutací *BRCA1* není toto riziko konzumací alkoholu nijak ovlivněno (Dennis et al. 2011). Některé práce uvádějí, že u žen s mutací v genu *BRCA1* je při konzumaci alkoholu riziko vzniku karcinomu prsu dokonce sníženo (Dennis et al. 2010). Možným vysvětlením je, že hlavním alkoholickým nápojem, který byl v této studii konzumován, bylo víno. Víno obsahuje polyfenoly, například resveratrol, který patří mezi fotoestrogeny a vykazuje tak podobné působení jako endogenní estrogen. Interakce resveratrolu s estrogenovými receptory, které jsou exprimovány v nádorových buňkách prsu, vede specificky ke zvýšení exprese genu *BRCA1* a genů kódujících proteiny s ním asociovaných, čímž brání rozvoji karcinomu prsu (Dennis et al. 2010; Le Corre et al. 2004).

Dalšími geny, které jsou v nádorových buňkách často hypermethylovány v důsledku konzumace alkoholu, jsou geny regulující buněčný cyklus, například *p16* a *p14*. Ty brání vstupu buňky do syntetické fáze buněčného cyklu, čímž inhibují buněčnou proliferaci. Snížení míry jejich exprese je tak spojeno s urychlením buněčné proliferace i u potenciálně poškozených buněk (Puri et al. 2005; Van Engeland et al. 2003). Hypermethylace promotorové oblasti obou těchto anti-onkogenů

byla pozorována například u karcinomu horního dýchacího a gastrointestinálního traktu, karcinomu prsu nebo tlustého střeva (Ishida et al. 2005; Qi a Xiong 2018; Sheng et al. 2017; Van Engeland et al. 2003).

Závěrem lze shrnout, že chronická konzumace alkoholu negativně ovlivňuje proces methylace DNA různými mechanismy, které vedou především ke snížení dostupnosti SAM. Kromě aberantní methylace vede snížená koncentrace SAM také ke snížení antioxidační ochrany buňky, neboť negativně ovlivňuje tvorbu glutathionu z homocysteinu a zvyšuje tak míru oxidačního stresu (Prudova et al. 2006).

4.3. Metabolismus kyseliny retinové

Dalším z mechanismů karcinogenního působení ethanolu je ovlivnění metabolismu kyseliny retinové. Kyselina retinová (RA; Retinoic acid) patří mezi deriváty vitamínu A (retinolu), ze kterých má nejvyšší biologickou aktivitu. Prostřednictvím regulace buněčného růstu, diferenciaci a apoptózy se zapojuje především do procesu ontogeneze. Mechanismem působení RA je změna genové exprese, ke které dochází v důsledku interakce RA s jadernými retinoidními receptory (RAR; Retinoic acid receptor), jež fungují jako transkripční faktory vážící se do cílové sekvence v promotorech příslušných responzivních genů. Bylo zjištěno, že ethanol může ovlivnit expresi až 532 RA-responzivních genů (Balmer a Blomhoff 2002). Snížená hladina RA v buňce je často spojena s buněčnou transformací, neboť dochází k deregulaci procesů buněčné proliferace a apoptózy, případně i ke ztrátě schopnosti buněčné diferenciaci, což může vést k rozvoji nádorových onemocnění (shrnutí v Seitz a Wang 2013).

K ovlivnění metabolismu RA, respektive ke snížení její koncentrace, může docházet například i v důsledku chronické konzumace alkoholu. Ovlivnění metabolismu RA ethanolem je dáno především enzymy, které se účastní metabolismu obou těchto látek. Retinol přijatý v potravě je totiž v jaterních buňkách metabolizován pomocí ADH na retinaldehyd, který je následně ALDH oxidován na RA (viz kapitola 2.1.1.). Jedním z možných mechanismů, kterým ethanol snižuje koncentraci RA, je snížení přeměny retinolu na RA v důsledku kompetice o aktivní místo enzymů ADH a ALDH (Fan et al. 2003; Molotkov et al. 2002). Jiným mechanismem je zvýšená mobilizace esterů retinyly, zásobní formy retinolu, do mimojaterních tkání prostřednictvím zvýšení exprese genu pro buněčný protein vážící retinol 1 (CRBPI; Cellular retinol-binding protein type I) v játrech. Produkt genu CRBPI zajišťuje transport retinolu krví (Kane et al. 2010). Snížení koncentrace RA v játrech současně napomáhá i zvýšená degradace RA a retinolu prostřednictvím CYP2E1, jehož aktivita může být indukována působením ethanolu (Liu et al. 2001).

V důsledku snížení koncentrace RA v buňce dochází ke snížení aktivace RAR, což je ve výsledku spojeno s aktivací transkripčního faktoru AP-1. K tomu konkrétně dochází snížením genové exprese MAPK fosfatázy-1, jejíž exprese je regulována RAR (Xu et al. 2002). Konstitutivní aktivace

signální dráhy MAPK/ERK, ke které dochází při nedostatečné hladině zmíněné fosfatázy v buňce, je zodpovědná za aktivaci AP-1 (Dedieu a Lefebvre 2006; Wang et al. 1998). Aktivace AP-1 následně vede k aktivaci přepisu genů účastnících se buněčné proliferace, čímž je nepřímo podpořena nádorová transformace (Chung et al. 2001; Wang et al. 1998). Karcinogenní působení AP-1 dále spočívá i ve snížení exprese genů *TP53* a *CDKN1A* (Cyclin-dependent kinase inhibitor 1A), jejichž produkty (p53 a p12) inhibují progresi buněčného cyklu v případě buněčného poškození (Borrás et al. 2003; Curtin et al. 2001; Kawasaki et al. 1998). Nízká koncentrace RA může současně negativně ovlivnit i genovou expresi *ALDH2*, což je důležitý enzym pro eliminaci acetaldehydu, který je hlavní příčinou rozvoje nádorových onemocnění v důsledku konzumace alkoholu (viz kapitola 3.), (Chen et al. 2015).

K nádorové transformaci mohou dále také přispívat i polární metabolity RA, 18-hydroxy-RA a 4-oxo-RA, vznikající během degradace RA enzymem CYP2E1, které působí proapoptoticky a vedou k poškození a potenciálně i nádorové transformaci jaterních buněk (Dan et al. 2005). Zdá se, že toxické metabolity RA hrají v rozvoji nádorových onemocnění zvláště významnou úlohu, neboť v rozsáhlé epidemiologické studii vedlo podání β -karotenu, prekursoru retinolu, kuřákům konzumujícím současně také alkohol, ke zvýšení incidence nádorových onemocnění (Albanes et al. 1996).

Vzhledem k tomu, že metabolismus RA probíhá především v játrech, je negativní vliv snížení hladiny RA v důsledku konzumace alkoholu patrný právě v této tkáni, kde může vést až k rozvoji karcinomu jater (Albanes et al. 1996). Zdá se však, že v řadě dalších tkání, například v nádorových buňkách jícnu nebo tlustého střeva, je koncentrace RA u chronických alkoholiků spíše zvýšena. Mechanismus působení zvýšené hladiny RA na rozvoj nádorového onemocnění v těchto tkáních je však nejasný (Schug et al. 2007). Vliv hladiny RA v souvislosti s rozvojem nádorových onemocnění, jakožto i úlohou ethanolu v metabolismu RA v extrahepatických tkáních, je tak třeba dále objasnit.

5. Závěr

Hlavním cílem této bakalářské práce bylo shrnutí poznatků o mechanismech nádorové transformace v souvislosti s konzumací alkoholu. Přestože alkohol (ethanol), respektive jeho metabolit acetaldehyd, byl již před několika lety zařazen mezi látky s prokázaným karcinogenním účinkem pro člověka, je míra konzumace alkoholu ve světě, včetně České republiky, stále vysoká.

Látkou s nejvýznamnějším karcinogenním účinkem je pravděpodobně acetaldehyd, který vzniká jako meziprodukt v metabolismu ethanolu. Produkce a metabolická degradace acetaldehydu mohou být ovlivněny řadou environmentálních a genetických faktorů, včetně polymorfismů genů, kódujících příslušné metabolické enzymy. Z hlediska akumulace acetaldehydu v organismu je závažná zejména kombinace alel, které podmiňují zvýšenou produkci acetaldehydu (alely *ADH1B*2*, *ADH1B*3*, *ADH1C*1*) a zároveň sníženou míru jeho eliminace (alela *ALDH2*2*). Ke zvýšení

produkce acetaldehydu dochází také u častých konzumentů alkoholu v důsledku změn v mikrobiomu horní části gastrointestinálního traktu.

Karcinogenní účinek acetaldehydu je často spojen s kovalentní vazbou acetaldehydu na nukleotidy v molekule DNA za vzniku různých typů DNA aduktů. Pokud nejsou DNA adukty opraveny, mohou vést ke vzniku různých typů mutací a potenciálně tak i k nádorové transformaci buňky. DNA adukty mohou vznikat také adukcí konečných produktů peroxidace lipidů, které vznikají při zvýšení míry oxidačního stresu. Oxidační stres bývá zvýšen v důsledku konzumace alkoholu například aktivací enzymu CYP2E1, který se účastní metabolismu ethanolu a zároveň produkuje reaktivní kyslíkové radikály, nebo některými enzymy mitochondriálního dýchacího řetězce.

Další mechanismy karcinogenního působení alkoholu zahrnují deregulaci methylace DNA, která je důležitá pro regulaci genové exprese. Ethanol negativně ovlivňuje reakce, které jsou pro proces methylace nezbytné, jako je snížení donoru methylové skupiny a/nebo enzymů přímo připojujících methylovou skupinu k DNA. Typicky dochází k hypermethylaci antionkogenů a hypomethylaci onkogenů. V neposlední řadě alkohol zasahuje do metabolismu kyseliny retinové, která za fyziologických podmínek reguluje buněčnou proliferaci a diferenciaci. Snížení hladiny kyseliny retinové, které lze u konzumentů alkoholu pozorovat, je spojeno s urychlením buněčné proliferace a potenciálně tak i s nádorovou transformací buňky.

Závěrem lze shrnout, že pochopení molekulárních mechanismů, kterými ethanol/acetaldehyd vedou k nádorové transformaci, může přispět k zavedení účinných preventivních nebo i terapeutických opatření, a tím napomoci snížení morbidity a mortality nádorových onemocnění v důsledku konzumace alkoholu.

6. Seznam použité literatury

- *AYALA, Antonio, Mario F. MUÑOZ a Sandro ARGÜELLES, 2014. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal Antonio. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* [online]. **2014**, 1–31. Dostupné z: doi:10.1155/2014/360438
- *BŘÍŽĎALA, JAN, 2017. Organická chemie | E-ChemBook :: Multimediální učebnice chemie. *E-chembook.eu* [online]. Dostupné z: <http://www.e-chembook.eu/organicka-chemie> [cit. 5.6. 2020].
- *BROOKS, Philip J. a Samir ZAKHARI, 2014. Acetaldehyde and the Genome: Beyond Nuclear DNA Adducts and Carcinogenesis. *Environmental and Molecular Mutagenesis* [online]. **55**(2), 77–91. Dostupné z: doi:10.1002/em.21824
- *CEDERBAUM, Arthur I., 2012. Alcohol Metabolism. *Clinics in Liver Disease* [online]. **16**(4), 667–685. Dostupné z: doi:10.1016/j.cld.2012.08.002
- *EDENBERG, Howard J. a Jeanette N. MCCLINTICK, 2018. Alcohol Dehydrogenases, Aldehyde Dehydrogenases, and Alcohol Use Disorders: A Critical Review. *Alcohol Clin Exp Res.* [online]. **42**(12), 2281–2297. Dostupné z: doi:10.1111/acer.13904
- *GENTILE, Fabrizio, Alessia ARCARO, Stefania PIZZIMENTI, Martina DAGA, Giovanni PAOLO CETRANGOLO, Chiara DIANZANI, Alessio LEPORE, Maria GRAF, Paul R. J. AMES a Giuseppina BARRERA, 2017. DNA damage by lipid peroxidation products: implications in cancer, inflammation and autoimmunity. *AIMS Genetics* [online]. **4**(2), 103–137. Dostupné z: doi:10.3934/genet.2017.2.103
- *GUENGERICH, F.P. a AVADHANI, N.G., 2018. Roles of Cytochrome P450 in Metabolism of Ethanol and Carcinogens. *Alcohol and Cancer* [online]. 15–35. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-319-98788-0_2
- *HURLEY, Thomas D. a Howard EDENBERG, 2012. Gene encoding enzymes in alcohol metabolism. *Alcohol Research: Current Reviews.* **34**(3), 339–344.
- *MINKO, Irina G, Ivan D KOZEKOV, Thomas M HARRIS, Carmelo J RIZZO, Stephen R LOYD a Michael P STONE, 2009. Chemistry and Biology of DNA Containing 1,N 2 -Deoxyguanosine Adducts of the α , β -unsaturated aldehydes acrolein, crotonaldehyde, and 4-hydroxynonenal. *Chemical research in toxicology.* **22**(5), 759–778.
- *MOLONEY, Jennifer N. a Thomas G. COTTER, 2018. ROS signalling in the biology of cancer. *Seminars in Cell and Developmental Biology.* 50–64.
- *NIEMINEN, Mikko T. a Mikko SALASPURO, 2018. Local acetaldehyde—an essential role in alcohol-related upper gastrointestinal tract carcinogenesis. *Cancers* [online]. **10**(1), 1–23. Dostupné z: doi:10.3390/cancers10010011
- *ORYWAL, Karolina a Maciej SZMITKOWSKI, 2017. Alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase in malignant neoplasms. *Clinical and Experimental Medicine* [online]. **17**(2), 131–139. Dostupné z: doi:10.1007/s10238-016-0408-3
- *PATON, Alex, 2005. ALCOHOL IN THE BODY. *Journal of the American Medical Association* [online]. **91**(3), 174. Dostupné z: doi:10.1001/jama.1928.02700030038013

- *PUROHIT, Vishnudutt, Rao RAPAKA, Oh Sang KWON a B. J. SONG, 2013. Roles of alcohol and tobacco exposure in the development of hepatocellular carcinoma. *Life Sciences* [online]. **92**(1), 3–9. Dostupné z: doi:10.1016/j.lfs.2012.10.009
- *RAJAGOPALA, Seesandra V., Sanjay VASHEE, Lauren M. OLDFIELD, Yo SUZUKI, J. Craig VENTER, Amalio TELENTI a Karen E. NELSON, 2017. The human microbiome and cancer. *Cancer Prevention Research* [online]. **10**(4), 226–234. Dostupné z: doi:10.1158/1940-6207.CAPR-16-0249
- *SEITZ, Helmut K. a Felix STICKEL, 2010. Acetaldehyde as an underestimated risk factor for cancer development: role of genetics in ethanol metabolism. *Genes & Nutrition* [online]. **5**(2), 121–128. Dostupné z: doi:10.1007/s12263-009-0154-1
- *SEITZ, Helmut K. a Xiang-Dong WANG, 2013. The Role of Cytochrome P450 2E1 in Ethanol-Mediated Carcinogenesis [online]. **67**, 131–143. Dostupné z: doi:10.1007/978-94-007-5881-0
- *SIES, Helmut, Carsten BERNDT a Dean P. JONES, 2017. Oxidative stress. *Annual review of biochemistry*. **86**, 715–748.
- *VARELA-REY, Marta, Ashwin WOODHOO, Maria Luz MARTINEZ-CHANTAR, José M. MATO a Shelly C. LU, 2013. Alcohol, DNA methylation, and cancer. *Alcohol Research: Current Reviews*. **35**(1), 25–35.
- *VENDITTI, Paola a Sergio DI MEO, 2020. The Role of Reactive Oxygen Species in the Life Cycle of the Mitochondrion. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. **21**(6), 2173. Dostupné z: doi:10.3390/ijms21062173
- *YU, Hsu-Sheng, Tsunehiro OYAMA, Toyohi ISSE, Kyoko KITAGAWA, Thi-Thu-Phuong PHAM, Masayuki TANAKA a Toshihiro KAWAMOTO, 2010. Formation of acetaldehyde-derived DNA adducts due to alcohol exposure. *Chemico-Biological Interactions* [online]. **188**(3), 367–375. Dostupné z: doi:10.1016/j.cbi.2010.08.005
- *ZIMA, Tomáš, 2018. Alcohol abuse. *The Journal of International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. **29**(4), 285–289.
- AHMAD, Shiekh Tanveer, Wani ARJUMAND, Sana NAFEES, Amlesh SETH, Nemat ALI, Summya RASHID a Sarwat SULTANA, 2012. Hesperidin alleviates acetaminophen induced toxicity in wistar rats by abrogation of oxidative stress, apoptosis and inflammation. *Toxicology Letters* [online]. **208**(2), 149–161. Dostupné z: doi:10.1016/j.toxlet.2011.10.023
- AKASAKA, Susumu a F. Peter GUENGERICH, 1999. Mutagenicity of Site-Specifically Located 1, N 2 - Ethenoguanine in Chinese Hamster Ovary Cell Chromosomal DNA. *Chemical Research in Toxicology* [online]. **12**(6), 501–507. Dostupné z: doi:10.1021/tx980259j
- ALBANES, Demetrius, Olli P. HEINONEN, Philip R. TAYLOR, Jarmo VIRTAMO, et al., 1996. α -Tocopherol and β -Carotene Supplements and Lung Cancer Incidence in the Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention Study: Effects of Base-line Characteristics and Study Compliance. *JNCI Journal of the National Cancer Institute* [online]. **88**(21), 1560–1570. Dostupné z: doi:10.1093/jnci/88.21.1560
- ALEXANDROV, Ludmil B, Serena NIK-ZAINAL, David C WEDGE a Samuel A J R APARICIO, 2013.

Signatures of mutational processes in human cancer. *Nature* [online]. **500**(7463), 415–421. Dostupné z: doi:10.1038/nature12477

ARTEEL, Gavin E., Yuji IIMURO, Ming YIN, James A. RALEIGH a Ronald G. THURMAN, 1997. Chronic enteral ethanol treatment causes hypoxia in rat liver tissue in vivo. *Hepatology* [online]. **25**(4), 920–926. Dostupné z: doi:10.1002/hep.510250422

BALBO, Silvia, Mia HASHIBE, Sarolta GUNDY, Paul BRENNAN, Cristina CANOVA, Lorenzo SIMONATO, Franco MERLETTI, Lorenzo RICHIARDI, Antonio AGUDO, X. CASTELLSAGUE, Ariana ZNAOR, Renato TALAMINI, Vladimir BENCKO, I. HOLCATOVA, Mingyao WANG, Stephen S. HECHT a Paolo BOFFETTA, 2008. N2-Ethyldeoxyguanosine as a Potential Biomarker for Assessing Effects of Alcohol Consumption on DNA. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* [online]. **17**(11), 3026–3032. Dostupné z: doi:10.1158/1055-9965.EPI-08-0117

BALBO, Silvia, Lei MENG, Robin L. BLISS, Joni A. JENSEN, Dorothy K. HATSUKAMI a Stephen S. HECHT, 2012. Kinetics of DNA Adduct Formation in the Oral Cavity after Drinking Alcohol. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention Biomarkers* [online]. **21**(4), 601–608. Dostupné z: doi:10.1158/1055-9965.EPI-11-1175

BALMER, James E. a Rune BLOMHOFF, 2002. Gene expression regulation by retinoic acid. *Journal of Lipid Research* [online]. **43**(11), 1773–1808. Dostupné z: doi:10.1194/jlr.R100015-JLR200

BANSAL, Seema, Hindupur K. ANANDATHEERTHAVARADA, Govindaswamy K. PRABU, Ginger L. MILNE, Martha V. MARTIN, F. Peter GUENGERICH a Narayan G. AVADHANI, 2013. Human Cytochrome P450 2E1 Mutations That Alter Mitochondrial Targeting Efficiency and Susceptibility to Ethanol-induced Toxicity in Cellular Models. *Journal of Biological Chemistry* [online]. **288**(18), 12627–12644. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.M113.452367

BANSAL, Seema, Chuan-Peng LIU, Naresh B. V. SEPURI, Hindupur K. ANANDATHEERTHAVARADA, Venkatesh SELVARAJ, Jan HOEK, Ginger L. MILNE, F. Peter GUENGERICH a Narayan G. AVADHANI, 2010. Mitochondria-targeted Cytochrome P450 2E1 Induces Oxidative Damage and Augments Alcohol-mediated Oxidative Stress. *Journal of Biological Chemistry* [online]. **285**(32), 24609–24619. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.M110.121822

BARAK, Anthony J., Harriet C. BECKENHAUER a Dean J. TUMA, 1996. Betaine effects on hepatic methionine metabolism elicited by short-term ethanol feeding. *Alcohol* [online]. **13**(5), 483–486. Dostupné z: doi:10.1016/0741-8329(96)00040-7

BOBUSTUC, George C., Amin B. KASSAM, Richard A. ROVIN, Sheila JEUDY, Joshua S. SMITH, Beth ISLEY, Maharaj SINGH, Ameya PARANJPE, Kalkunte S. SRIVENUGOPAL a Santhi D. KONDURI, 2018. MGMT inhibition in ER positive breast cancer leads to CDC2, TOP2A, AURKB, CDC20, KIF20A, Cyclin A2, Cyclin B2, Cyclin D1, ER α and Survivin inhibition and enhances response to temozolomide. *Oncotarget* [online]. **9**(51), 29727–29742. Dostupné z: doi:10.18632/oncotarget.25696

BÖNSCH, D., B. LENZ, R. FISZER, H. FRIELING, J. KORNHUBER a S. BLEICH, 2006. Lowered DNA methyltransferase (DNMT-3b) mRNA expression is associated with genomic DNA hypermethylation in patients

with chronic alcoholism. *Journal of Neural Transmission* [online]. **113**(9), 1299–1304. Dostupné z: doi:10.1007/s00702-005-0413-2

BORRAS, Elisa, Rosa ZARAGOZA, Maria MORANTE, Concha GARCIA, Amparo GIMENO, Gerardo LOPEZ-RODAS, Teresa BARBER, Vicente J. MIRALLES, Juan R. VINA a Luis TORRES, 2003. In vivo studies of altered expression patterns of p53 and proliferative control genes in chronic vitamin A deficiency and hypervitaminosis. *European Journal of Biochemistry* [online]. **270**(7), 1493–1501. Dostupné z: doi:10.1046/j.1432-1033.2003.03511.x

CARO, Andres A., Sarah THOMPSON a Jonathan TACKETT, 2011. Increased oxidative stress and cytotoxicity by hydrogen sulfide in HepG2 cells overexpressing cytochrome P450 2E1. *Cell Biology and Toxicology* [online]. **27**(6), 439–453. Dostupné z: doi:10.1007/s10565-011-9198-2

CHEN, Danqi, Lei FANG, Hongjie LI a Chunyuan JIN, 2018. The effects of acetaldehyde exposure on histone modifications and chromatin structure in human lung bronchial epithelial cells. *Environmental and Molecular Mutagenesis* [online]. **59**(5), 375–385. Dostupné z: doi:10.1002/em.22187

CHEN, Ken-Chung, Wei-Ting HSUEH, Chun-Yen OU, Cheng-Chih HUANG, et al., 2015. Alcohol Drinking Obliterates the Inverse Association Between Serum Retinol and Risk of Head and Neck Cancer. *Medicine* [online]. **94**(26), 1–9. Dostupné z: doi:10.1097/MD.0000000000001064

CHI, Yu-Chou, Shou-Lun LEE, Yung-Ping LEE, Ching-Long LAI a Shih-Jiun YIN, 2018. Modeling of Human Hepatic and Gastrointestinal Ethanol Metabolism with Kinetic-Mechanism-Based Full-Rate Equations of the Component Alcohol Dehydrogenase Isozymes and Allozymes. *Chemical Research in Toxicology* [online]. **31**(7), 556–569. Dostupné z: doi:10.1021/acs.chemrestox.8b00003

CHO, Young-Jin, Hao WANG, Ivan D. KOZEKOV, Andrew J. KURTZ, Jaison JACOB, Markus VOEHLER, Jarrod SMITH, Thomas M. HARRIS, R. Stephen LLOYD, Carmelo J. RIZZO a Michael P. STONE, 2006. Stereospecific Formation of Interstrand Carbinolamine DNA Cross-Links by Crotonaldehyde- and Acetaldehyde-Derived α -CH 3 - γ -OH-1, N 2 -Propano-2'-deoxyguanosine Adducts in the 5'-CpG-3' Sequence. *Chemical Research in Toxicology* [online]. **19**(2), 195–208. Dostupné z: doi:10.1021/tx050239z

CHOI, Jeong-Yun, Karen C. ANGEL a F. Peter GUENGERICH, 2006a. Translesion Synthesis across Bulky N 2 -Alkyl Guanine DNA Adducts by Human DNA Polymerase κ . *Journal of Biological Chemistry* [online]. **281**(30), 21062–21072. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.M602246200

CHOI, Jeong-Yun a F. Peter GUENGERICH, 2005. Adduct Size Limits Efficient and Error-free Bypass Across Bulky N2-Guanine DNA Lesions by Human DNA Polymerase η . *Journal of Molecular Biology* [online]. **352**(1), 72–90. Dostupné z: doi:10.1016/j.jmb.2005.06.079

CHOI, Jeong-Yun, Hong ZANG, Karen C. ANGEL, Ivan D. KOZEKOV, Angela K. GOODENOUGH, Carmelo J. RIZZO a F. Peter GUENGERICH, 2006b. Translesion Synthesis Across 1, N 2 -Ethenoguanine by Human DNA Polymerases. *Chemical Research in Toxicology* [online]. **19**(6), 879–886. Dostupné z: doi:10.1021/tx060051v

CHOI, Sang-woon, Felix STICKEL, Hyun Wook BAIK, Young-in KIM, Helmut K SEITZ a Joel B MASON, 1999. Biochemical and Molecular Action of Nutrients Chronic Alcohol Consumption Induces Genomic but Not

p53-Specific DNA Hypomethylation in Rat Colon. **129**(11), 1945–1950.

CHOI, Yoon-Jung, Seung-Kwon MYUNG a Ji-Ho LEE, 2018. Light Alcohol Drinking and Risk of Cancer: A Meta-Analysis of Cohort Studies. *Cancer Research and Treatment: official journal of Korean Cancer Association* [online]. **50**(2), 474–487. Dostupné z: doi:10.4143/crt.2017.094

CHOUDHURY, Sujata, Jishen PAN, Shantu AMIN, Fung-Lung CHUNG a Rabindra ROY, 2004. Repair kinetics of trans-4-hydroxynonenal-induced cyclic 1, N 2-propanodeoxyguanine DNA adducts by human cell nuclear extracts. *Biochemistry*. **43**(23), 7514–7521.

CHROSTEK, Lech, Wojciech JELSKI, Maciej SZMITKOWSKI a Zbigniew PUCHALSKI, 2003. Gender-related differences in hepatic activity of alcohol dehydrogenase isoenzymes and aldehyde dehydrogenase in humans. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* [online]. **17**(3), 93–96. Dostupné z: doi:10.1002/jcla.10076

CHUNG, Jayong, Chun LIU, Donald E SMITH, Helmut K SEITZ, Robert M RUSSELL a Xiang-dong WANG, 2001. Restoration of retinoic acid concentration supresses ethanol-enhanced c-Jun expression and hepatocyte proliferation in rat liver. *Carcinogenesis*. **22**(8), 1213–1219.

CROUS-BOU, Marta, Gad RENNERT, Daniel CUADRAS, Ramon SALAZAR, David CORDERO, Hedy SALTZ RENNERT, Flavio LEJBKOWICZ, Levy KOPELOVICH, Steven MONROE LIPKIN, Stephen BERNARD GRUBER a Victor MORENO, 2013. Polymorphisms in Alcohol Metabolism Genes ADH1B and ALDH2, Alcohol Consumption and Colorectal Cancer. *PLoS One* [online]. **8**(11), e80158. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0080158

CURTIN, Joshua C., Konstantin H. DRAGNEV, David SEKULA, Allison J. CHRISTIE, Ethan DMITROVSKY a Michael J. SPINELLA, 2001. Retinoic acid activates p53 in human embryonal carcinoma through retinoid receptor-dependent stimulation of p53 transactivation function. *Oncogene* [online]. **20**(20), 2559–2569. Dostupné z: doi:10.1038/sj.onc.1204370

Český statistický úřad [online]. ČSÚ: 2018 [cit. 5.6.2020]. Dostupné z: <https://www.czso.cz/csu/czso/graf-spotreba-alkoholickych-napoju-na-1-obyvatele-v-ceske-republice>

DAN, Zili, Yury POPOV, Eleonora PATSENKER, Dorothee PREIMEL, Chun LIU, Xiang-Dong WANG, Helmut K. SEITZ, Detlef SCHUPPAN a Felix STICKEL, 2005. Hepatotoxicity of alcohol-induced polar retinol metabolites involves apoptosis via loss of mitochondrial membrane potential. *The FASEB Journal* [online]. **19**(7), 845–847. Dostupné z: doi:10.1096/fj.04-2809fje

DEDIEU, Stephane a Philippe LEFEBVRE, 2006. Retinoids interfere with the AP1 signalling pathway in human breast cancer cells. *Cellular Signalling* [online]. **18**(6), 889–898. Dostupné z: doi:10.1016/j.cellsig.2005.08.001

DENNIS, Jessica, Parviz GHADIRIAN, Julian LITTLE, Jan LUBINSKI, Jacek GRONWALD, Charmaine KIM-SING, William FOULKES, Pal MOLLER, Henry T. LYNCH, Susan L. NEUHAUSEN, Susan DOMCHEK, Susan ARMEL, Claudine ISAACS, Nadine TUNG, Kevin SWEET, Peter AINSWORTH, Ping SUN, Daniel KREWSKI a Steven NAROD, 2010. Alcohol consumption and the risk of breast cancer among BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *The Breast* [online]. **19**(6), 479–483. Dostupné z: doi:10.1016/j.breast.2010.05.009

DENNIS, Jessica, Daniel KREWSKI, Frédérique-Sophie CÔTÉ, Eve FAFARD, Julian LITTLE a Parviz

- GHADIRIAN, 2011. Breast Cancer Risk in Relation to Alcohol Consumption and BRCA Gene Mutations - A Case-Only Study of Gene-Environment Interaction. *The Breast Journal* [online]. **17**(5), 477–484. Dostupné z: doi:10.1111/j.1524-4741.2011.01133.x
- DEXHEIMER, Thomas S., Alben KOZEKOVA, Carmelo J. RIZZO, Michael P. STONE a Yves POMMIER, 2008. The modulation of topoisomerase I-mediated DNA cleavage and the induction of DNA-topoisomerase I crosslinks by crotonaldehyde-derived DNA adducts. *Nucleic Acids Research* [online]. **36**(12), 4128–4136. Dostupné z: doi:10.1093/nar/gkn334
- DROSTEN, Matthias, Alma DHAWAHIR, Eleanor Y M SUM, Jelena UROSEVIC, Carmen G. LECHUGA, Luis M. ESTEBAN, Esther CASTELLANO, Carmen GUERRA, Eugenio SANTOS a Mariano BARBACID, 2010. Genetic analysis of Ras signalling pathways in cell proliferation, migration and survival. *The EMBO Journal* [online]. **29**(6), 1091–1104. Dostupné z: doi:10.1038/emboj.2010.7
- EROL, Almila a Victor M. KARPYAK, 2015. Sex and gender-related differences in alcohol use and its consequences: Contemporary knowledge and future research considerations. *Drug and Alcohol Dependence* [online]. **156**, 1–13. Dostupné z: doi:10.1016/j.drugalcdep.2015.08.023
- ESPINA, Noel, Viera LIMA, Charles S. LIEBER a Anthony J. GARRO, 1988. In vitro and in vivo inhibitory effect of ethanol and acetaldehyde on O 6 -methylguanine transferase. *Carcinogenesis* [online]. **9**(5), 761–766. Dostupné z: doi:10.1093/carcin/9.5.761
- FAN, Xiaohong, Andrei MOLOTKOV, Shin-Ichi MANABE, Christine M. DONMOYER, Louise DELTOUR, Mario H. FOGLIO, Arnold E. CUENCA, William S. BLANER, Stuart A. LIPTON a Gregg DUESTER, 2003. Targeted Disruption of Aldh1a1 (Raldh1) Provides Evidence for a Complex Mechanism of Retinoic Acid Synthesis in the Developing Retina. *Molecular and Cellular Biology* [online]. **23**(13), 4637–4648. Dostupné z: doi:10.1128/MCB.23.13.4637-4648.2003
- FAN, Xiaozhou, Brandilyn A. PETERS, Eric J. JACOBS, Susan M. GAPSTUR, Mark P. PURDUE, Neal D. FREEDMAN, Alexander V. ALEKSEYENKO, Jing WU, Liying YANG, Zhiheng PEI, Richard B. HAYES a Jiyoun AHN, 2018. Drinking alcohol is associated with variation in the human oral microbiome in a large study of American adults. *Microbiome* [online]. **6**(1), 59. Dostupné z: doi:10.1186/s40168-018-0448-x
- FANG, Jia-Long a Carlos E. VACA, 1995. Development of a 32 P-postlabelling method for the analysis of adducts arising through the reaction of acetaldehyde with 2'-deoxyguanosine-3'-monophosphate and DNA. *Carcinogenesis* [online]. **16**(9), 2177–2185. Dostupné z: doi:10.1093/carcin/16.9.2177
- FODDAI, Marzia, Gabriella DOSIA, Saturnino SPIGA a Marco DIANA, 2004. Acetaldehyde Increases Dopaminergic Neuronal Activity in the VTA. *Neuropsychopharmacology* [online]. **29**(3), 530–536. Dostupné z: doi:10.1038/sj.npp.1300326
- GARAYCOECHEA, Juan I., Gerry P. CROSSAN, Frédéric LANGEVIN, Lee MULDERRIG, Sandra LOUZADA, Fentang YANG, Guillaume GUILBAUD, Naomi PARK, Sophie ROERINK, Serena NIK-ZAINAL, Michael R. STRATTON a Ketan J. PATEL, 2018. Alcohol and endogenous aldehydes damage chromosomes and mutate stem cells. *Nature* [online]. **553**(7687), 171–177. Dostupné z: doi:10.1038/nature25154

- GARCIA, et al., 2011. [13C2]- Acetaldehyde Promotes Unequivocal Formation of 1,N2-Propano-2'-deoxyguanosine in Human Cells. *Journal of the American Chemical Society*. **133**(24), 9140–9143.
- GARRO, Anthony J., Dani L. MCBETH, Viera LIMA a Charles S. LIEBER, 1991. Ethanol Consumption Inhibits Fetal DNA Methylation in Mice: Implications for the Fetal Alcohol Syndrome. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* [online]. **15**(3), 395–398. Dostupné z: doi:10.1111/j.1530-0277.1991.tb00536.x
- GORENKOVA, Natalia, Emma ROBINSON, David J. GRIEVE a Alexander GALKIN, 2013. Conformational Change of Mitochondrial Complex I Increases ROS Sensitivity During Ischemia. *Antioxidants & Redox Signaling* [online]. **19**(13), 1459–1468. Dostupné z: doi:10.1089/ars.2012.4698
- GROS, Laurent, Andrei V. MAKSIMENKO, Cyril V. PRIVEZENTZEV, Jacques LAVAL a Murat K. SAPARBAEV, 2004. Hijacking of the Human Alkyl- N -purine-DNA Glycosylase by 3, N 4 -Ethenocytosine, a Lipid Peroxidation-induced DNA Adduct. *Journal of Biological Chemistry* [online]. **279**(17), 17723–17730. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.M314010200
- GU, Chunming, Maoxiao FENG, Zhao YIN, Xiaochuang LUO, Juhua YANG, Yumin LI, Tianfu LI, Ruirui WANG a Jia FEI, 2016. RalA, a GTPase targeted by miR-181a, promotes transformation and progression by activating the Ras-related signaling pathway in chronic myelogenous leukemia. *Oncotarget* [online]. **7**(15), 20561–20573. Dostupné z: doi:10.18632/oncotarget.7987
- HAN, Derick, Heather S. JOHNSON, Madhuri P. RAO, Gary MARTIN, Harsh SANCHETI, Kai H. SILKWOOD, Carl W. DECKER, Kim Tho NGUYEN, Joseph G. CASIAN, Enrique CADENAS a Neil KAPLOWITZ, 2017. Mitochondrial remodeling in the liver following chronic alcohol feeding to rats. *Free Radical Biology and Medicine* [online]. **102**, 100–110. Dostupné z: doi:10.1016/j.freeradbiomed.2016.11.020
- HAN, Derick, Everett WILLIAMS a Enrique CADENAS, 2001. Mitochondrial respiratory chain-dependent generation of superoxide anion and its release into the intermembrane space. *Biochemical Journal* [online]. **353**(2), 411–416. Dostupné z: doi:10.1042/0264-6021:3530411
- HANG, Bo, Ahmed CHENNA, Anton B. GULIAEV a B. SINGER, 2003. Miscoding properties of 1,N6-ethanoadenine, a DNA adduct derived from reaction with the antitumor agent 1,3-bis(2-chloroethyl)-1-nitrosourea. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* [online]. **531**(1–2), 191–203. Dostupné z: doi:10.1016/j.mrfmmm.2003.07.006
- HIGUCHI, Susumu, Sachio MATSUSHITA, Hiromi IMAZEKI, Tadao KINOSHITA, Satoshi TAKAGI a Hiroaki KONO, 1994. Aldehyde dehydrogenase genotypes In Japanese alcoholics. *The Lancet* [online]. **343**(8899), 741–742. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(94)91629-2
- HIROHASHI, Kenshiro, Shinya OHASHI, Yusuke AMANUMA, Yukie NAKAI, Tomomi IDA, Kiichiro BABA, Yosuke MITANI, Ayaka MIZUMOTO, Yoshihiro YAMAMOTO, Osamu KIKUCHI, Junichi MATSUBARA, Atsushi YAMADA, Shin'ichi MIYAMOTO, Hiroshi SENO, Tomonari MATSUDA a Manabu MUTO, 2020. Protective effects of Alda-1, an ALDH2 activator, on alcohol-derived DNA damage in the esophagus of human ALDH2*2 (Glu504Lys) knock-in mice. *Carcinogenesis* [online]. **41**(2), 194–202. Dostupné z: doi:10.1093/carcin/bgz091
- HODSKINSON, Michael R., Alice BOLNER, Koichi SATO, Ashley N. KAMIMAE-LANNING, Koos

ROOIJERS, Merlijn WITTE, Mohan MAHESH, Jan SILHAN, Maya PETEK, David M. WILLIAMS, Jop KIND, Jason W. CHIN, Ketan J. PATEL a Puck KNIPSCHEER, 2020. Alcohol-derived DNA crosslinks are repaired by two distinct mechanisms. *Nature* [online]. 1–6. Dostupné z: doi:10.1038/s41586-020-2059-5

HU, Ting, Rui ZHOU, Yanxia ZHAO a Gang WU, 2016. Integrin $\alpha 6$ /Akt/Erk signaling is essential for human breast cancer resistance to radiotherapy. *Scientific Reports* [online]. 6(33376), 1–6. Dostupné z: doi:10.1038/srep33376

HU, Wenwei, Zhaohui FENG, Jamie EVELEIGH, Ganesh IYER, Jishen PAN, Shantu AMIN, Fung-Lung CHUNG a Moon-shong TANG, 2002. The major lipid peroxidation product, trans-4-hydroxy-2-nonenal, preferentially forms DNA adducts at codon 249 of human p53 gene, a unique mutational hotspot in hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis* [online]. 23(11), 1781–1789. Dostupné z: doi:10.1093/carcin/23.11.1781

INAGAKI, Shinsuke, Yukihiro ESAKA, Masashi GOTO, Yoshihiro DEYASHIKI a Magoichi SAKO, 2004. LC-MS Study on the Formation of Cyclic 1,N2-Propano Guanine Adduct in the Reactions of DNA with Acetaldehyde in the Presence of Histone. *Biological & Pharmaceutical Bulletin* [online]. 27(3), 273–276. Dostupné z: doi:10.1248/bpb.27.273

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER, et al., 2010. *Alcohol Consumption and Ethyl Carbamate* [online]. Dostupné z: doi:10.1136/jcp.48.7.691-a

ISHIDA, Eiwa, Mitsutoshi NAKAMURA, Miwa IKUTA, Keiji SHIMADA, Syuichi MATSUYOSHI, Tadaaki KIRITA a Noboru KONISHI, 2005. Promotor hypermethylation of p14ARF is a key alteration for progression of oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncology* [online]. 41(6), 614–622. Dostupné z: doi:10.1016/j.oraloncology.2005.02.003

KANE, Maureen A., Alexandra E. FOLIAS, Chao WANG, FOLIAS a Joseph L. NAPOLI, 2010. Ethanol elevates physiological all- trans -retinoic acid levels in select loci through altering retinoid metabolism in multiple loci: a potential mechanism of ethanol toxicity. *The FASEB Journal* [online]. 24(3), 823–832. Dostupné z: doi:10.1096/fj.09-141572

KARNA, Shibendra Kumar Lal, Faiz AHMAD, Bilal Ahmad LONE a Yuba Raj POKHAREL, 2019. Knockdown of PTOV1 and PIN1 exhibit common phenotypic anti-cancer effects in MDA-MB-231 cells. *PLOS One* [online]. 14(5). Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0211658

KAWAI, Y, S TAKEDA a J TERAOKA, 2007. Lipidomic analysis for lipid peroxidation derive aldehyde Using Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Chemical Research in Toxicology*. 20(1), 99–107.

KAWASAKI, Hiroaki, Richard ECKNER, Tso-Pang YAO, Kazunari TAIRA, Robert CHIU, David M. LIVINGSTON a Kazunari K. YOKOYAMA, 1998. Distinct roles of the co-activators p300 and CBP in retinoic-acid-induced F9-cell differentiation. *Nature* [online]. 393(6682), 284–289. Dostupné z: doi:10.1038/30538

KENYON, Susan H., Anna NICOLAOU a William A. GIBBONS, 1998. The Effect of Ethanol and Its Metabolites Upon Methionine Synthase Activity In Vitro. *Alcohol* [online]. 15(4), 305–309. Dostupné z: doi:10.1016/S0741-8329(97)00134-1

KIMURA, Mitsuru, Tomohiro MIYAKAWA, Sachio MATSUSHITA, Mirai SO a Susumu HIGUCHI, 2011.

- Gender Differences in the Effects of ADH1B and ALDH2 Polymorphisms on Alcoholism. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* [online]. **35**(11), 1923–1927. Dostupné z: doi:10.1111/j.1530-0277.2011.01543.x
- KURKIVUORI, Johanna, Ville SALASPURO, Pertti KAIHOVAARA, Kirsti KARI, Riina RAUTEMAA, Lisa GRÖNROOS, Jukka H. MEURMAN a Mikko SALASPURO, 2007. Acetaldehyde production from ethanol by oral streptococci. *Oral Oncology* [online]. **43**(2), 181–186. Dostupné z: doi:10.1016/j.oraloncology.2006.02.005
- KURTZ, Andrew J. a R. Stephen LLOYD, 2003. 1, N 2 -Deoxyguanosine Adducts of Acrolein, Crotonaldehyde, and trans -4-Hydroxynonenal Cross-link to Peptides via Schiff Base Linkage. *Journal of Biological Chemistry* [online]. **278**(8), 5970–5976. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.M212012200
- LE CORRE, Ludovic, Pierre FUSTIER, Nasséra CHALABI, Yves-Jean BIGNON a Dominique BERNARD-GALLON, 2004. Effects of resveratrol on the expression of a panel of genes interacting with the BRCA1 oncosuppressor in human breast cell lines. *Clinica Chimica Acta* [online]. **344**(1–2), 115–121. Dostupné z: doi:10.1016/j.cccn.2004.02.024
- LEE, Taunia D., Mamatha R. SADDA, Michel H. MENDLER, Teodoro BOTTIGLIERI, Gary KANEL, José M. MATO a Shelly C. LU, 2004. Abnormal Hepatic Methionine and Glutathione Metabolism in Patients With Alcoholic Hepatitis. *Alcoholism: Clinical & Experimental Research* [online]. **28**(1), 173–181. Dostupné z: doi:10.1097/01.ALC.0000108654.77178.03
- LEUNG, Travis, Ramkumar RAJENDRAN, Subir SINGH, Richa GARVA, Marija KRSTIC-DEMONACOS a Constantinos DEMONACOS, 2013. Cytochrome P450 2E1 (CYP2E1) regulates the response to oxidative stress and migration of breast cancer cells. *Breast Cancer Research* [online]. **15**(6), R107. Dostupné z: doi:10.1186/bcr3574
- LEVINE, R. L., I. Y. YANG, M. HOSSAIN, G. A. PANDYA, A. P. GROLLMAN a M. MORIYA, 2000. Mutagenesis induced by a single 1,N6-ethenodeoxyadenosine adduct in human cells. *Cancer Research*. **60**(15), 4098–4104.
- LI, Dawei, Hongyu ZHAO a Joel GELERNTER, 2011. Strong association of the alcohol dehydrogenase 1B gene (ADH1B) with alcohol dependence and alcohol-induced medical diseases. *Biological psychiatry*. **70**(6), 504–512.
- LI, Dawei, Hongyu ZHAO a Joel GELERNTER, 2012. Further clarification of the contribution of the ADH1C gene to vulnerability of alcoholism and selected liver diseases. *Human Genetics* [online]. **131**(8), 1361–1374. Dostupné z: doi:10.1007/s00439-012-1163-5
- LINDERBORG, Klas, Mikko SALASPURO a Satu VÄKEVÄINEN, 2011. A single sip of a strong alcoholic beverage causes exposure to carcinogenic concentrations of acetaldehyde in the oral cavity. *Food and Chemical Toxicology* [online]. **49**(9), 2103–2106. Dostupné z: doi:10.1016/j.fct.2011.05.024
- LINNEBERG, A., A. GONZALEZ-QUINTELA, C. VIDAL, T. JØRGENSEN, M. FENGER, T. HANSEN, O. PEDERSEN a L. L. N. HUSEMOEN, 2010. Genetic determinants of both ethanol and acetaldehyde metabolism influence alcohol hypersensitivity and drinking behaviour among Scandinavians. *Clinical & Experimental Allergy* [online]. **40**(1), 123–130. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2222.2009.03398.x
- LIU, Chun, Robert M. RUSSELL, Helmut K. SEITZ a Xiang Dong WANG, 2001. Ethanol enhances retinoic

acid metabolism into polar metabolites in rat liver via induction of cytochrome P4502E1. *Gastroenterology* [online]. **120**(1), 179–189. Dostupné z: doi:10.1053/gast.2001.20877

LU, Shelly C., Zong-Zhi HUANG, Heping YANG, José M. MATO, Matías A. AVILA a Hidekazu TSUKAMOTO, 2000. Changes in methionine adenosyltransferase and S -adenosylmethionine homeostasis in alcoholic rat liver. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* [online]. **279**(1), G178–G185. Dostupné z: doi:10.1152/ajpgi.2000.279.1.G178

MAEJIMA, Ryuhei, Katsunori IJIMA, Pertti KAIHOVAARA, Waku HATTA, Tomoyuki KOIKE, Akira IMATANI, Tooru SHIMOSEGAWA a Mikko SALASPURO, 2015. Effects of ALDH2 Genotype, PPI Treatment and L-Cysteine on Carcinogenic Acetaldehyde in Gastric Juice and Saliva after Intragastric Alcohol Administration. *PLoS One* [online]. **10**(4). Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0120397

MARIETTA, Cheryl, Larry H. THOMPSON, Jane E. LAMERDIN a P.J. BROOKS, 2009. Acetaldehyde stimulates FANCD2 monoubiquitination, H2AX phosphorylation, and BRCA1 phosphorylation in human cells in vitro: implications for alcohol-related carcinogenesis. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. **664**(1–2), 77–83.

MARTTILA, E., P. BOWYER, D. SANGLARD, J. UITTAMO, P. KAIHOVAARA, M. SALASPURO, M. RICHARDSON a R. RAUTEMAA, 2013. Fermentative 2-carbon metabolism produces carcinogenic levels of acetaldehyde in *Candida albicans*. *Molecular Oral Microbiology* [online]. **28**(4), 281–291. Dostupné z: doi:10.1111/omi.12024

MATSUDA, Tomonari, Masanobu KAWANISHI, Saburo MATSUI, Takashi YAGI a Hiraku TAKEBE, 1998. Specific tandem GG to TT base substitutions induced by acetaldehyde are due to intra-strand crosslinks between adjacent guanine bases. *Nucleic Acids Research* [online]. **26**(7), 1769–1774. Dostupné z: doi:10.1093/nar/26.7.1769

MERKOFER, Martin, Reinhard KISSNER, Robert C. HIDER, Ulf T. BRUNK a Willem H. KOPPENOL, 2006. Fenton Chemistry and Iron Chelation under Physiologically Relevant Conditions: Electrochemistry and Kinetics. *Chemical Research in Toxicology* [online]. **19**(10), 1263–1269. Dostupné z: doi:10.1021/tx060101w

MILLONIG, Gunda, Ying WANG, Nils HOMANN, Friederike BERNHARDT, Hua QIN, Sebastian MUELLER, Helmut BARTSCH a Helmut K. SEITZ, 2011. Ethanol-mediated carcinogenesis in the human esophagus implicates CYP2E1 induction and the generation of carcinogenic DNA-lesions. *International Journal of Cancer* [online]. **128**(3), 533–540. Dostupné z: doi:10.1002/ijc.25604

MIOZZO, Federico, Hélène ARNOULD, Aurélie DE THONEL, Anne-Laure SCHANG, Délara SABÉRAN-DJONEIDI, Anne BAUDRY, Benoît SCHNEIDER a Valérie MEZGER, 2018. Alcohol exposure promotes DNA methyltransferase DNMT3A upregulation through reactive oxygen species-dependent mechanisms. *Cell Stress and Chaperones* [online]. **23**(1), 115–126. Dostupné z: doi:10.1007/s12192-017-0829-2

MOLOTKOV, Andrei, Louise DELTOUR, Mario H. FOGLIO, Arnold E. CUENCA a Gregg DUESTER, 2002. Distinct retinoid metabolic functions for alcohol dehydrogenase genes *Adh1* and *Adh4* in protection against vitamin A toxicity or deficiency revealed in double null mutant mice. *Journal of Biological Chemistry* [online]. **277**(16), 13804–13811. Dostupné z: doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.110.956839

- MONTGOMERY, Stephen B, David L GOODE, Erika KVIKSTAD, Cornelis A ALBERS, et al., 2013. The origin, evolution, and functional impact of short insertion-deletion variants identified in 179 human genomes. *Genome Research*. **23**(5), 749–761.
- MORITANI, K., T. TAKESHITA, Y. SHIBATA, T. NINOMIYA, Y. KIYOHARA a Y. YAMASHITA, 2015. Acetaldehyde production by major oral microbes. *Oral Diseases* [online]. **21**(6), 748–754. Dostupné z: doi:10.1111/odi.12341
- MORTON, Jennifer P., Saadia A. KARIM, Kathryn GRAHAM, Paul TIMPSON, Nigel JAMIESON, Dimitris ATHINEOS, Brendan DOYLE, Colin MCKAY, Man–Yeung HEUNG, Karin A. OIEN, Margaret C. FRAME, T.R. Jeffry EVANS, Owen J. SANSOM a Valerie G. BRUNTON, 2010. Dasatinib Inhibits the Development of Metastases in a Mouse Model of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Gastroenterology* [online]. **139**(1), 292–303. Dostupné z: doi:10.1053/j.gastro.2010.03.034
- MUTO, Manabu, Yoshiaki HITOMI, Atsushi OHTSU, Hiroyuki SHIMADA, Yukiko KASHIWASE, Hiroki SASAKI, Sigeaki YOSHIDA a Hiroyasu ESUMI, 2000. Acetaldehyde production by non-pathogenic *Neisseria* in human oral microflora: Implications for carcinogenesis in upper aerodigestive tract. *International Journal of Cancer* [online]. **88**(3), 342–350. Dostupné z: doi:10.1002/1097-0215(20001101)88:3<342::AID-IJC4>3.0.CO;2-I
- NIEMELA, Onni, Riitta-Maaria MANNERMAA a Jouko OIKARINEN, 1990. Impairment of histone H1 DNA binding by adduct formation with acetaldehyde. *Life Sciences*. **47**(24), 2241–2249.
- ONETA, Carl M., Charles S. LIEBER, JunJie LI, Sigmund RÜTTIMANN, Beat SCHMID, Jürg LATTMANN, Alan S. ROSMAN a Helmut K. SEITZ, 2002. Dynamics of cytochrome P4502E1 activity in man: induction by ethanol and disappearance during withdrawal phase. *Journal of Hepatology* [online]. **36**(1), 47–52. Dostupné z: doi:10.1016/S0168-8278(01)00223-9
- PAGET, Vincent, Mathilde LECHEVREL a Francois SICHEL, 2008. Acetaldehyde-induced mutational pattern in the tumour suppressor gene TP53 analysed by use of a functional assay, the FASAY (functional analysis of separated alleles in yeast). *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* [online]. **652**(1), 12–19. Dostupné z: doi:10.1016/j.mrgentox.2007.11.010
- PAVLOVA, Sylvia I., Ling JIN, Stephen R. GASPAROVICH a Lin TAO, 2013. Multiple alcohol dehydrogenases but no functional acetaldehyde dehydrogenase causing excessive acetaldehyde production from ethanol by oral streptococci. *Microbiology* [online]. **159**(Pt 7), 1437–1446. Dostupné z: doi:10.1099/mic.0.066258-0
- PENG, Giia-Sheun, Yi-Chyan CHEN, Ming-Fang WANG, Ching-Long LAI a Shih-Jiun YIN, 2014. ALDH2*2 but not ADH1B*2 is a causative variant gene allele for Asian alcohol flushing after a low-dose challenge: correlation of the pharmacokinetic and pharmacodynamic findings. *Pharmacogenetics and Genomics* [online]. **24**(12), 607–617. Dostupné z: doi:10.1097/FPC.0000000000000096
- PÉREZ-MATO, Isabel, Carmen CASTRO, Félix A. RUIZ, Fernando J. CORRALES a José M. MATO, 1999. Methionine Adenosyltransferase S -Nitrosylation Is Regulated by the Basic and Acidic Amino Acids Surrounding the Target Thiol. *Journal of Biological Chemistry* [online]. **274**(24), 17075–17079. Dostupné

z: doi:10.1074/jbc.274.24.17075

PRUDOVA, Anna, Zachary BAUMAN, Aaron BRAUN, Victor VITVITSKY, Shelly C. LU a Ruma BANERJEE, 2006. S-adenosylmethionine stabilizes cystathionine beta-synthase and modulates redox capacity. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. **103**(17), 6489–6494. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.0509531103

PURI, Sajeev K., Lingbao SI, Chun-Yang FAN a Ehab HANNA, 2005. Aberrant promoter hypermethylation of multiple genes in head and neck squamous cell carcinoma. *American Journal of Otolaryngology* [online]. **26**(1), 12–17. Dostupné z: doi:10.1016/j.amjoto.2004.06.007

QI, Ming a Xiang XIONG, 2018. Promoter hypermethylation of RAR β 2, DAPK, hMLH1, p14, and p15 is associated with progression of breast cancer. *Medicine* [online]. **97**(51). Dostupné z: doi:10.1097/MD.00000000000013666

RAHMAN, Mohummad Aminur, Andrea GRAS NAVARRO, Jorunn BREKKE, Agnete ENGELSEN, et al., 2019. Bortezomib administered prior to temozolomide depletes MGMT, chemosensitizes glioblastoma with unmethylated MGMT promoter and prolongs animal survival. *British Journal of Cancer* [online]. **121**(7), 545–555. Dostupné z: doi:10.1038/s41416-019-0551-1

RANGANATHAN, Aarati, Mustafa N. YAZICIOGLU a Melanie H. COBB, 2006. The Nuclear Localization of ERK2 Occurs by Mechanisms Both Independent of and Dependent on Energy. *Journal of Biological Chemistry* [online]. **281**(23), 15645–15652. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.M513866200

RASHBASTEP, J., N.J. TURRO a A.I. CEDERBAUM, 1993. Increased NADPH- and NADH-Dependent Production of Superoxide and Hydroxyl Radical by Microsomes after Chronic Ethanol Treatment. *Archives of Biochemistry and Biophysics* [online]. **300**(1), 401–408. Dostupné z: doi:10.1006/abbi.1993.1054

ROBIN, Marie-Anne, Hindupur K. ANANDATHEERTHAVARADA, Gopa BISWAS, Naresh Babu V. SEPURI, et al., 2002. Bimodal Targeting of Microsomal CYP2E1 to Mitochondria through Activation of an N-terminal Chimeric Signal by cAMP-mediated Phosphorylation. *Journal of Biological Chemistry* [online]. **277**(43), 40583–40593. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.M203292200

ROBIN, Marie-Anne, Ingrid SAUVAGE, Thomas GRANDPERRET, Véronique DESCATOIRE, Dominique PESSAYRE a Bernard FROMENTY, 2005. Ethanol increases mitochondrial cytochrome P450 2E1 in mouse liver and rat hepatocytes. *FEBS Letters* [online]. **579**(30), 6895–6902. Dostupné z: doi:10.1016/j.febslet.2005.11.029

SALASPURO, V. J., Jaana M. HIETALA, Martti L. MARVOLA a Mikko P. SALASPURO, 2006. Eliminating Carcinogenic Acetaldehyde By Cysteine From Saliva During Smoking. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* [online]. **15**(1), 146–149. Dostupné z: doi:10.1158/1055-9965.EPI-05-0248

SÁNCHEZ-GÓNGORA, E., F. RUIZ, J. MINGORANCE, W. AN, F. J. CORRALES a J. M. MATO, 1997. Interaction of liver methionine adenosyltransferase with hydroxyl radical. *The FASEB Journal*. **11**(12), 1013–1019.

SCHUG, Thaddeus T., Daniel C. BERRY, Natacha S. SHAW, Skylar N. TRAVIS a Noa NOY, 2007. Opposing Effects of Retinoic Acid on Cell Growth Result from Alternate Activation of Two Different Nuclear Receptors.

Cell [online]. **129**(4), 723–733. Dostupné z: doi:10.1016/j.cell.2007.02.050

SHEAFFER, Karyn L., Ellen N. ELLIOTT a Klaus H. KAESTNER, 2016. DNA Hypomethylation Contributes to Genomic Instability and Intestinal Cancer Initiation. *Cancer Prevention Research* [online]. **9**(7), 534–546. Dostupné z: doi:10.1158/1940-6207.CAPR-15-0349

SHEN, Q., I. P. URAY, Y. LI, T. I. KRISKO, T. E. STRECKER, H-T KIM a P. H. BROWN, 2008. The AP-1 transcription factor regulates breast cancer cell growth via cyclins and E2F factors. *Oncogene* [online]. **27**(3), 366–377. Dostupné z: doi:10.1038/sj.onc.1210643

SHENG, Xianneng, Yu GUO a Yang LU, 2017. Prognostic role of methylated GSTP1, p16, ESR1 and PITX2 in patients with breast cancer: A systematic meta-analysis under the guideline of PRISMA. *Medicine* [online]. **96**(28). Dostupné z: doi:10.1097/MD.0000000000007476

SINHA, Rupal, Showket HUSSAIN, Ravi MEHROTRA, R. Suresh KUMAR, et al., 2013. Kras Gene Mutation and RASSF1A, FHIT and MGMT Gene Promoter Hypermethylation: Indicators of Tumor Staging and Metastasis in Adenocarcinomatous Sporadic Colorectal Cancer in Indian Population. *PLoS One* [online]. **8**(4). Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0060142

SONOHARA, Yuina, Junpei YAMAMOTO, Kosuke TOHASHI, Reine TAKATSUKA, Tomonari MATSUDA, Shigenori IWAI a Isao KURAOKA, 2019. Acetaldehyde forms covalent GG intrastrand crosslinks in DNA. *Scientific Reports* [online]. **9**(1), 1–8. Dostupné z: doi:10.1038/s41598-018-37239-6

SPITELLER, Peter, Werner KERN, Josef REINER a Gerhard SPITELLER, 2001. Aldehydic lipid peroxidation products derived from linoleic acid. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids* [online]. **1531**(3), 188–208. Dostupné z: doi:10.1016/S1388-1981(01)00100-7

STEIN, Scott, Yanbin LAO, In-Young YANG, Stephen S. HECHT a Masaaki MORIYA, 2006. Genotoxicity of acetaldehyde- and crotonaldehyde-induced 1,N2-propanodeoxyguanosine DNA adducts in human cells. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* [online]. **608**(1), 1–7. Dostupné z: doi:10.1016/j.mrgentox.2006.01.009

STEMPAK, Joanne M., Kyoung-Jin SOHN, En-Pei CHIANG, Barry SHANE a Young-In KIM, 2005. Cell and stage of transformation-specific effects of folate deficiency on methionine cycle intermediates and DNA methylation in an in vitro model. *Carcinogenesis* [online]. **26**(5), 981–990. Dostupné z: doi:10.1093/carcin/bgi037

SUZUKI, Takeshi, Kenji WAKAI, Keitaro MATSUO, Kaoru HIROSE, et al., 2006. Effect of dietary antioxidants and risk of oral, pharyngeal and laryngeal squamous cell carcinoma according to smoking and drinking habits. *Cancer Science* [online]. **97**(8), 760–767. Dostupné z: doi:10.1111/j.1349-7006.2006.00232.x

TAN, Minjia, Hao LUO, Sangkyu LEE, Fulai JIN, Jeong Soo YANG, et al., 2011. Identification of 67 Histone Marks and Histone Lysine Crotonylation as a New Type of Histone Modification. *Cell* [online]. **146**(6), 1016–1028. Dostupné z: doi:10.1016/j.cell.2011.08.008

THERUVATHU, Jacob A., Pawel JARUGA, Raghu G. NATH, Miral DIZDAROGLU a Peter J. BROOKS, 2005. Polyamines stimulate the formation of mutagenic 1,N2-propanodeoxyguanosine adducts from acetaldehyde. *Nucleic Acids Research* [online]. **33**(11), 3513–3520. Dostupné z: doi:10.1093/nar/gki661

- TILLONEN, J., P. KAIHOVAARA, H. JOUSIMIES-SOMER, R. HEINE a M. SALASPURO, 1998. Role of Catalase in In Vitro Acetaldehyde Formation by Human Colonic Contents. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* [online]. **22**(5), 1113–1119. Dostupné z: doi:10.1111/j.1530-0277.1998.tb03709.x
- TORNALETTI, Silvia, 2005. Transcription arrest at DNA damage sites. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* [online]. **577**(1–2), 131–145. Dostupné z: doi:10.1016/j.mrfmmm.2005.03.014
- TSURUTA, Haruka, Yuina SONOHARA, Kosuke TOHASHI, Narumi AOKI SHIOI, Shigenori IWAI a Isao KURAOKA, 2020. Effects of acetaldehyde-induced DNA lesions on DNA metabolism. *Genes and Environment* [online]. **42**(1), 1–7. Dostupné z: doi:10.1186/s41021-019-0142-7
- UEBELACKER, Michael a Dirk W. LACHENMEIER, 2011. Quantitative Determination of Acetaldehyde in Foods Using Automated Digestion with Simulated Gastric Fluid Followed by Headspace Gas Chromatography. *Journal of Automated Methods and Management in Chemistry* [online]. **2011**, 1–13. Dostupné z: doi:10.1155/2011/907317
- UPTON, Dana C., Xueying WANG, Patrick BLANS, Fred W. PERRINO, James C. FISHBEIN a Steven A. AKMAN, 2006. Replication of N²-Ethyldeoxyguanosine DNA Adducts in the Human Embryonic Kidney Cell Line 293. *Chemical Research in Toxicology* [online]. **19**(7), 960–967. Dostupné z: doi:10.1021/tx060084a
- Ústav zdravotnických informací a statistiky České republiky [online]. ÚZIS: 2016 [cit. 5.6. 2020]. Dostupné z: <https://www.uzis.cz/index.php?pg=record&id=8139>
- VAN ENGELAND, Manon, Matty P. WEIJENBERG, Guido M J M ROEMEN, Mirian BRINK, et al., 2003. Effects of dietary folate and alcohol intake on promoter methylation in sporadic colorectal cancer: the Netherlands cohort study on diet and cancer. *Cancer research*. **63**(12), 3133–3137.
- WALTER, Raymond K., Renato POLIMANTI, Emma C. JOHNSON, Jeanette N. MCCLINTICK, et al., 2018. Transancestral GWAS of alcohol dependence reveals common genetic underpinnings with psychiatric disorders. *Nature Neuroscience* [online]. **21**(12), 1656–1669. Dostupné z: doi:10.1038/s41593-018-0275-1
- WANG, Mingyao, Edward J. MCINTEE, Guang CHENG, Yongli SH, Peter W. VILLALTA a Stephen S. HECHT, 2000. Identification of DNA adducts of acetaldehyde. *Chemical Research in Toxicology*. **13**(11), 1149–1157.
- WANG, Mingyao, Nanxiong YU, Li CHEN, Peter W. VILLALTA, J. Bradley HOCHALTER a Stephen S. HECH, 2006. Identification of an acetaldehyde adduct in human liver DNA and quantitation as N²-ethyldeoxyguanosine. *Chemical research in toxicology*. **19**(2), 319–324.
- WANG, Xiang-Dong, Chun LIU, Jayong CHUNG, Felix STICKEL, Helmut K. SEITZ a Robert M. RUSSELL, 1998. Chronic alcohol intake reduces retinoic acid concentration and enhances AP-1 (c-Jun and c-Fos) expression in rat liver. *Hepatology* [online]. **28**(3), 744–750. Dostupné z: doi:10.1002/hep.510280321
- WANG, Yanming, Wolfgang FISCHLE, Wang CHEUNG, Steven JACOBS, Sepideh KHORASANIZADEH a C. David ALLIS, 2004. Beyond the Double Helix: Writing and Reading the Histone Code. In: *Novartis Foundation Symposium* [online]. s. 3–21. Dostupné z: doi:10.1002/0470862637.ch2

- WANI, Nissar Ahmad a Jyotdeep KAUR, 2011. Reduced levels of folate transporters (PCFT and RFC) in membrane lipid rafts result in colonic folate malabsorption in chronic alcoholism. *Journal of Cellular Physiology* [online]. **226**(3), 579–587. Dostupné z: doi:10.1002/jcp.22525
- WILSON, Lauren E., Zongli XU, Sophia HARLID, Alexandra J. WHITE, Melissa A. TROESTER, Dale P. SANDLER a Jack A. TAYLOR, 2019. Alcohol and DNA Methylation: An Epigenome-Wide Association Study in Blood and Normal Breast Tissue. *American Journal of Epidemiology* [online]. **188**(6), 1055–1065. Dostupné z: doi:10.1093/aje/kwz032
- XU, Qihe, Tsuneo KONTA, Akira FURUSU, Kenji NAKAYAMA, Javier LUCIO-CAZANA, Leon G. FINE a Masanori KITAMURA, 2002. Transcriptional Induction of Mitogen-activated Protein Kinase Phosphatase 1 by Retinoids Selective roles of nuclear receptors and contribution to the antiapoptotic effect. *Journal of Biological Chemistry* [online]. **277**(44), 41693–41700. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.M207095200
- YANG, Shu-Juan, Akira YOKOYAMA, Tetsuji YOKOYAMA, Yu-Chuan HUANG, et al., 2010. Relationship between genetic polymorphisms of ALDH2 and ADH1B and esophageal cancer risk: A meta-analysis. *World Journal of Gastroenterology* [online]. **16**(33), 4210. Dostupné z: doi:10.3748/wjg.v16.i33.4210
- YE, Qinyuan, Fuzhi LIAN, Pollyanna R G CHAVEZ, Jayong CHUNG, Wenhua LING, Hua QIN, Helmut K SEITZ a Xiang-Dong WANG, 2012. Cytochrome P450 2E1 inhibition prevents hepatic carcinogenesis induced by diethylnitrosamine in alcohol-fed rats. *Hepatobiliary surgery and nutrition*. **1**(1), 5–18.
- YUKAWA, Yoshiyuki, Manabu MUTO, Kimiko HORI, Haruna NAGAYOSHI, et al., 2012. Combination of ADH1B*2/ALDH2*2 polymorphisms alters acetaldehyde-derived DNA damage in the blood of Japanese alcoholics. *Cancer Science* [online]. **103**(9), 1651–1655. Dostupné z: doi:10.1111/j.1349-7006.2012.02360.x
- ZASO, Michelle J., Jessica M. DESALU, Jueun KIM, Kavita SURYADEVARA, John M. BELOTE a Aesoon PARK, 2018. Interaction between the ADH1B*3 allele and drinking motives on alcohol use among Black college students. *The American Journal of Drug and Alcohol Abuse* [online]. **44**(3), 329–338. Dostupné z: doi:10.1080/00952990.2017.1339054
- ZHAO, Jia-Jun, Hong-Yu LI, Di WANG, Hui YAO a Da-Wei SUN, 2014. Abnormal MGMT promoter methylation may contribute to the risk of esophageal cancer: a meta-analysis of cohort studies. *Tumor Biology* [online]. **35**(10), 10085–10093. Dostupné z: doi:10.1007/s13277-014-2276-3
- ZHOU, Jianzhong a Henry WEINER, 2000. Basis for Half-of-the-Site Reactivity and the Dominance of the K487 Oriental Subunit over the E487 Subunit in Heterotetrameric Human Liver Mitochondrial Aldehyde Dehydrogenase. *Biochemistry* [online]. **39**(39), 12019–12024. Dostupné z: doi:10.1021/bi001221k
- ZHUGE, Jian a Arthur I. CEDERBAUM, 2007. Depletion of S-adenosyl-L-methionine with cycloleucine potentiates cytochrome P450 2E1 toxicity in primary rat hepatocytes. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. **466**(2), 177–185.

Literatura s * označuje sekundární citaci.